UNTERSUCHUNG VON MANGAN(II)-, NICKEL(II)-, ZINN(II)- UND BLEI(II)-IONEN AUF RADIKALBILDENDE EIGENSCHAFTEN IN VIVO

Werner Beuter

1981

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41535726_0022

Aus dem Institut für Pharmakologie, Toxikologie und Pharmazie
der Tierärztlichen Fakultät der Universität München
Arbeit angefertigt unter Leitung von Prof. Dr. A. Schmid

UNTERSUCHUNG VON MANGAN(II)-, NICKEL(II)-, ZINN(II)- UND BLEI(II)-IONEN AUF RADIKALBILDENDE EIGENSCHAFTEN IN VIVO

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der tiermedizinischen Doktorwürde der
Tierärztlichen Fakultät der Ludwig-Maximilians Universität
München

von
Werner Beuter
aus
Wangen im Allgäu

München 1981

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Gedruckt mit Genehmigung der Tierärztlichen Fakultät
der Universität München

Dekan: Prof. Dr. J. von Sandersleben
Referent: Prof. Dr. A. Schmid
Korreferent: Prof. Dr. D. Giesecke

Tag der Promotion: 27. Februar 1981

Meiner lieben Frau

INHALTSVERZEICHNIS

		Seite
I.	EINLEITUNG	1
II.	LITERATURÜBERSICHT	3
1.	Toxikologische Bedeutung chemischer Radikale	3
1.1.	Definition	3
1.2.	Spontane Radikalbildung	3
1.2.1.	Unimolekulare Homolyse ("Thermolyse")	3
1.2.2.	Photolyse	3
1.2.3.	Radiolyse	4
1.2.4.	Radikalbildung bei Enzymreaktionen	4
1.3.	Radikalbildung durch Schwermetalle und sonstige Noxen	5
1.4.	Radikalwirkungen	8
1.4.1.	Wirkungen auf Membranlipide	8
1.4.1.1.	Lipidperoxidation	8
1.4.1.2.	Folgereaktionen und Folgeprodukte	9
1.4.1.3.	Zytopathologische Bedeutung der Lipidperoxidation	10
1.4.2.	Wirkungen auf Proteine	11
1.4.3.	Wirkungen auf Nukleinsäuren	11
1.5.	Schutzmechanismen gegen Radikale und Radikalwirkungen in vivo	11
1.5.1.	Niedriger pO_2	11
1.5.2.	Vitamin E	11
1.5.3.	Hemmstoffe von Singlet-Sauerstoff	12
1.5.4.	Superoxid-dismutasen (SOD)	12
1.5.5.	Katalasen und Peroxidasen	12
1.6.	Wirkungsbedingungen von Radikalschäden in vivo	13
1.7.	Messung der Lipidperoxidation	14
1.7.1.	Messung der Lipidperoxidation in vitro	14
1.7.2.	Messung der Lipidperoxidation in vivo	14
2.	Die untersuchten Schwermetalle	16
2.1.	Mangan	16
2.1.1.	Vorkommen, Verwendung und Bedeutung	16

		Seite
2.1.2.	Chemische und physikalische Eigenschaften	17
2.1.3.	Stoffwechselverhalten	18
2.1.3.1.	Resorption	18
2.1.3.2.	Endogene Verteilung	18
2.1.3.3.	Ausscheidung	18
2.1.4.	Radikalbildung und -wirkungen	19
2.2.	Nickel	20
2.2.1.	Vorkommen, Verwendung und Bedeutung	20
2.2.2.	Chemische und physikalische Eigenschaften	20
2.2.3.	Stoffwechselverhalten	21
2.2.3.1.	Resorption	21
2.2.3.2.	Endogene Verteilung	21
2.2.3.3.	Ausscheidung	22
2.2.4.	Radikalbildung und -wirkungen	22
2.3.	Zinn	22
2.3.1.	Vorkommen, Verwendung und Bedeutung	22
2.3.2.	Chemische und physikalische Eigenschaften	23
2.3.3.	Stoffwechselverhalten	24
2.3.3.1.	Resorption	24
2.3.3.2.	Endogene Verteilung	24
2.3.3.3.	Ausscheidung	24
2.3.4.	Radikalbildung und -wirkungen	24
2.3.4.1.	Untersuchungen in vitro	24
2.4.	Blei	25
2.4.1.	Vorkommen, Verwendung und Bedeutung	25
2.4.2.	Chemische und physikalische Eigenschaften	26
2.4.3.	Stoffwechselverhalten	27
2.4.3.1.	Resorption	27
2.4.3.2.	Endogene Verteilung	27
2.4.3.3.	Ausscheidung	28
2.4.3.4.	Rückstandsbildung	28
2.4.4.	Radikalbildung und -wirkungen	29
2.4.4.1.	Untersuchungen in vitro	29
2.4.4.2.	Untersuchungen in vivo	30

		Seite
III.	EIGENE UNTERSUCHUNGEN	31
1.	Problemstellung	31
2.	Versuchsplan	31
3.	Untersuchungsmethodik	32
3.1.	Versuchstiere, Versuchstierhaltung und -fütterung	32
3.2.	Gewinnung der Exspirationsluft	34
3.3.	Versuchsdurchführung	35
3.4.	Chemikalien und Referenzgase	35
3.5.	Kohlenwasserstoffbestimmung im Exsikkatorgas	36
4.	Versuchsauswertung	36
4.1.	Qualitative Auswertung	36
4.2.	Quantitative Auswertung	37
4.2.1.	Eichkurven	37
4.2.2.	Berechnung der Kohlenwasserstoffexspiration	40
5.	Ergebnisse	40
5.1.	Blindwerte	40
5.1.1.	Blindwerte ohne Versuchstiere	40
5.1.2.	Vergleichschromatogramm	41
5.1.3.	Blindwerte mit Versuchstieren	42
5.2.	Kontrollversuche	43
5.2.1.	Kontrollversuche mit Natriumazetat	43
5.2.2.	Kontrullversuche mit Natriumsulfat	44
5.3.	Testversuche	45
5.3.1.	Testversuche mit Manganazetat	45
5.3.2.	Testversuche mit Nickelazetat	51
5.3.3.	Testversuche mit Zinnsulfat	56
5.3.4.	Testversuche mit Bleiazetat	63
6.	Statistische Beurteilung der Ergebnisse	70
6.1.	Nachweisgrenzen	70
6.2.	Schwermetallabhängigkeit der Äthan- und Äthenexspiration	71
6.3.	Dosisabhängigkeit der Äthan- und Äthenexspiration	73

		Seite
6.4.	Zeitabhängigkeit der Äthan- und Äthen-exspiration	74
IV.	DISKUSSION	76
V.	ZUSAMMENFASSUNG - SUMMARY	82
VI.	LITERATURVERZEICHNIS	84

I. EINLEITUNG

Schwermetalle und Schwermetallverbindungen spielen eine erhebliche Rolle im Lebensbereich von Menschen sowie Haus- und Nutztieren. Sie dienen als Baustoffe im weitesten Sinn (Ställe, Geräte etc.) und haben Bedeutung als

- Spurenelemente bzw. Futterzusatzstoffe (Vanadium, Chrom, Mangan, Eisen, Kobalt, Nickel, Kupfer, Zink, Molybdän, Zinn),
- Arzneistoffe wie Eisenverbindungen oder Zinkbacitracin, quecksilberhaltige Salidiuretika, kupfer-, zink-, silber-, zinn-, quecksilber- und wismuthaltige Desinfektionsmittel,
- Pestizide wie thalliumhaltige Insektizide und Rodentizide,
- Umweltschadstoffe wie anorganische und organische Kadmium-, Quecksilber-, Blei- und Thalliumverbindungen, und
- Gewerbegifte wie Schwermetallstäube, -dämpfe und -oxide.

Bei allen derartigen Gelegenheiten hat sich gezeigt, daß die Schwermetalle und/oder Schwermetallverbindungen eine zwar verschiedene, jedoch stets erhebliche Toxizität für Menschen und Tiere besitzen, wobei sich ihr Wirkungsspektrum von lokalen Effekten wie allergischen Reaktionen oder Verätzung von Schleimhäuten über Stoffwechsel- (Enzymblockade) und Funktionsstörungen (zentrale Exzitationen, Herz- und Kreislaufdepression etc.) sowie eine Organ- (Leber, Nieren etc.) und Gewebeschädigung (Knochensystem, Knochenmark, Blut etc.) bis zu mutagenen, teratogenen und kanzerogenen Effekten erstreckt.

Man hat die Genese dieser Schadwirkungen vor allem mit chemischen bzw. physikalisch-chemischen Eigenschaften der Schwermetallionen wie der Bildung von stabilen Sulfiden (SH-Blockade mit Proteindenaturierung bzw. Enzymblockade) und Ionenhydraten (Membranlabilisierung oder -stabilisierung) etc. in Verbindung gebracht. Vor kurzem konnte jedoch gezeigt werden, (Schmid, 1979; Schmid und Christoph, 1980), daß Eisen(II)-ionen i n v i v o potente

Radikalbildner sind und offenbar eine wesentliche Rolle beim Zustandekommen der parenteralen Eisenvergiftung von Jungtieren spielen.

Ein solcher radikalischer Schädigungsmechanismus ist theoretisch auch bei manchen anderen Schwermetallen vorstellbar. Er könnte bislang schwer erklärbare Wirkungen, z. B. ihre mutagenen und kanzerogenen Eigenschaften, dem Verständnis näher bringen und würde einen Beitrag zur besseren Risikoabschätzung bei Schwermetallexpositionen darstellen.

Aus diesen Gründen sind im Rahmen der vorliegenden Arbeit Mangan(II)-, Nickel(II)-, Zinn(II)- und Blei(II)-ionen auf radikalinduzierende Eigenschaften i n v i v o untersucht worden.

Anmerkung. Die Arbeit ist zur gleichen Zeit wie die Dissertation von A. Friedrich (München 1981): "Untersuchung von Chrom(III)-, Cobalt(II)-, Cer(III)- und Quecksilber(I)ionen auf radikalbildende Eigenschaften in vivo" am Institut für Pharmakologie, Toxikologie und Pharmazie der Tierärztlichen Fakultät der Universität München angefertigt worden. Dabei hat eine partielle Zusammenarbeit bei der Literaturbeschaffung und -auswertung sowie eine gegenseitige Diskussion der Ergebnisse stattgefunden, welche in gewissen Parallelitäten beider Dissertationen zum Ausdruck kommt.

II. LITERATURÜBERSICHT

1. Toxikologische Bedeutung chemischer Radikale

1. 1. Definition

Ein Radikal ist ein Atom oder Molekül, welches auf einem äußeren Orbital ein einzelnes, ungepaartes Elektron besitzt (Demopoulos, 1973 b). Es kann positiv geladen ($Q^{\cdot +}$), negativ geladen ($Q^{\cdot -}$) oder ein neutrales Teilchen ($Q^{\cdot}$) sein (Demopoulos, 1973 a).

Freie Radikale sind meist kurzlebig (einige msec), sehr reaktionsfähig und neigen zu Oxidations- und Additionsreaktionen (Pryor, 1976).

1. 2. Spontane Radikalbildung

1. 2. 1. Unimolekulare Homolyse ("Thermolyse")

Freie Radikale können in vivo durch homolytische Spaltung schwacher kovalenter Bindungen entstehen, wenn diese durch thermische Energie gelöst werden (Pryor, 1976). Wesentlich ist dabei, daß das bindende Elektronenpaar (:) hälftig auf beide Bruchstücke verteilt wird. Ein Beispiel ist die homolytische Spaltung von Peroxiden (RO:OR'):

$$RO{:}OR' \longrightarrow RO^{\cdot} + R'O^{\cdot}$$

Verbindungen, welche zu einer solchen spontanen Radikalbildung befähigt sind, werden auch als "Initiatoren" von Radikalreaktionen (häufig Kettenreaktionen) bezeichnet (Pryor, 1974; Pryor, 1976).

1. 2. 2. Photolyse

Eine weitere Möglichkeit der Radikalbildung ist die Photolyse. Hier wird die Energie zur Spaltung chemischer Bindungen durch

UV-Licht geliefert. Sie verursacht zunächst eine Molekülanregung (Schwingungszustände; Q^*), welche zum Bruch von Bindungen führt (Turro, 1965; Pryor, 1974):

$$Cl_2 \longrightarrow Cl_2^* \longrightarrow 2\ Cl^\cdot$$

Die Photolyse spielt vor allem eine Rolle bei der Sonnenlichteinwirkung auf die Haut und auf Mikroorganismen etc. (Pryor, 1976), wobei es zur Krebsbildung bzw. Keimabtötung kommen kann.

1. 2. 3. Radiolyse

Unter Radiolyse versteht man die Spaltung von Molekülen durch ionisierende Strahlung wie α-, β-, γ-, Protonen- oder Neutronenstrahlung (Pryor, 1974). Dabei werden vor allem Wassermoleküle angeregt und zu Ionen und Radikalen umgesetzt, von welchen H$^\cdot$- und OH$^\cdot$-Radikale die größte pathogene Bedeutung haben:

Anregung:	$H_2O \longrightarrow H_2O^*$
Ionisation:	$H_2O^* \longrightarrow H_2O^{\cdot +} + e$
Folgereaktionen:	$H_2O^* \longrightarrow H^\cdot + OH^\cdot$
	$H_2O + H_2O^* \longrightarrow H_2O^{\cdot +} + H_2O^{\cdot -}$
	$H_2O^{\cdot -} \longrightarrow H^\cdot + OH^-$
	$H_2O^{\cdot +} \longrightarrow H^+ + OH^\cdot$
	$e + H_2O \longrightarrow H_2O^{\cdot -} \longrightarrow H^\cdot + OH^-$

(Lissner und Hug, 1975)

1. 2. 4. Radikalbildung bei Enzymreaktionen

Manche Enzyme produzieren Radikale, welche vom Enzym abdissoziieren können, bevor sie zu einem Teilchen mit gerader Elektronenzahl reduziert (oder oxidiert) worden sind (Pryor, 1976).

Zwei-Elektronen-Übergänge, zum Beispiel die Elektronenübertragung in der Atmungskette, können als eine Folge von Ein-Elektronen-Schritten ablaufen, wobei Radikale als Zwischenprodukte

gebildet werden (Pryor, 1976). Unter physiologischen Bedingungen sind die Atmungskettenenzyme in so enger Nachbarschaft angeordnet, daß die Elektronen auf Sauerstoff übertragen werden, ohne daß freie Radikale das System verlassen (Mead, 1976). Dies kann aber unter pathologischen Bedingungen (Schädigungen der Mitochondrienmembran) geschehen.

Ein anderes Beispiel ist das mischfunktionelle Oxidasensystem, das vor allem in der Leber lokalisiert ist und eine Oxidation vieler körpereigener Substanzen und Xenobiotika bewirkt. Dieser Vorgang (Phase-I-Reaktion), der in der Regel eine bessere Wasserlöslichkeit und Entgiftung zur Folge hat, kann auch zu einer Giftung führen, wie es bei der Metabolisierung von Tetrachlorkohlenstoff der Fall ist. Tetrachlorkohlenstoff wird dabei von dem mischfunktionellen Oxidasensystem zu einem Trichlormethyl-radikal umgesetzt (Mead, 1976; Recknagel et al., 1977).

1. 3. Radikalbildung durch Schwermetalle und sonstige Noxen

Bei einigen Schwermetallen und sonstigen Noxen liegen Untersuchungsergebnisse vor, die eine Radikalbildung beweisen. Einen Überblick gibt folgende Zusammenstellung:

Fremdstoff	Autor	Bemerkungen
O_2 (hyperbarisch)	Fridovich, 1976	in vitro
O_2^*	Baird et al., 1977	in vitro
O_3	Roehm et al., 1971 Pryor, 1976	in vitro in vitro
NO_2	Thomas et al., 1968 Roehm et al., 1971	in vitro in vitro

Fremdstoff	Autor	Bemerkungen
Chlorierte Kohlenwasserstoffe	Riely et al., 1974	in vivo
	Hafeman und Hoekstra, 1977	in vivo
	Koester et al., 1977	in vivo
	Sagai und Tappel, 1979	in vivo
	Schmid und Jungbauer, 1980	in vivo
	Wurster, 1980	in vivo
Cr^{3+}	Friedrich, 1980	in vivo
Fe^{2+}	Smith und Dunkley, 1962	in vitro
	Hochstein et al., 1964	in vitro
	Barber, 1965	in vitro
	Sharma, 1977	in vitro
	Schmid, 1979	in vivo
	Schmid und Christoph, 1980	in vivo
Cu^{+}	Lindquist, 1968	in vitro und in vivo
	Moroff et al., 1974	in vitro
Hg^{+}	Friedrich, 1980	in vivo
Pb^{2+}	Sifri und Hoekstra, 1978	in vivo
	Ramstoeck et al., 1980	in vivo

Im Falle der Radikalbildung durch Schwermetalle (Me) kommen vor allem folgende Reaktionen in Betracht:

a) Bildung des Superoxid-Anion-Radikals (Ein-Elektronen-Transfer):

$$Me^{n+} + O_2 \longrightarrow Me^{(n+1)+} + O_2^{\cdot -} \quad \text{(Mead, 1976)}$$

Folgereaktion in Gegenwart von H_2O_2:

$$O_2^{\cdot -} + H_2O_2 \longrightarrow O_2 + OH^- + OH^{\cdot}$$ (Haber und Weiß, 1934; Willson, 1978)

Mögliche Folgereaktion: Lipidperoxidation

b) Bildung eines Lipidradikals:

$$Me^{n+} + O_2 \longrightarrow MeO_2^{n+}$$
$$MeO_2^{n+} + H^+ \longrightarrow HOO^{\cdot} + Me^{(n+1)+}$$ (Lindquist, 1968)
$$HOO^{\cdot} + LH \longrightarrow L^{\cdot} + H_2O_2$$

Mögliche Folgereaktion: Lipidperoxidation

c) Spaltung von Wasserstoffperoxid (Fenton-Reaktion):

$$Me^{n+} + H_2O_2 \longrightarrow OH^{\cdot} + OH^- + Me^{(n+1)+}$$
(Pryor, 1976)

Mögliche Folgereaktion: Lipidperoxidation

d) Katalyse des Zerfalls von Lipidhydroperoxiden:

$$Me^{n+} + LOOH \longrightarrow Me^{(n+1)+} + OH^- + LO^{\cdot}$$
(Mead, 1976)
$$Me^{(n+1)+} + LOOH \longrightarrow Me^{n+} + H^+ + LOO^{\cdot}$$
(Lindquist, 1968)

Während es sich in diesen Fällen um Ein-Elektronen-Übergänge handelt, stellt sich die Frage, ob auch Zwei-Elektronen-Übergänge von Schwermetallen (Zinn, Blei) zur Radikalbildung führen können? In diesem Fall muß man wohl davon ausgehen, daß der

Zwei-Elektronen-Übergang als Zwischenform ($Sn^{\cdot 3+}$, $Pb^{\cdot 3+}$) ein freies Radikal bildet, das seinerseits sehr reaktionsfähig ist und neue Radikale induziert. Zum Beispiel:

$$Sn^{2+} + O_2 \longrightarrow Sn^{\cdot 3+} + O_2^{\cdot -} \quad \text{(siehe oben a))}$$
$$Sn^{\cdot 3+} + LOOH \rightarrow Sn^{4+} + OH^- + LO^{\cdot} \quad \text{(siehe oben d))}$$

1. 4. Radikalwirkungen

1. 4. 1. Wirkungen auf Membranlipide

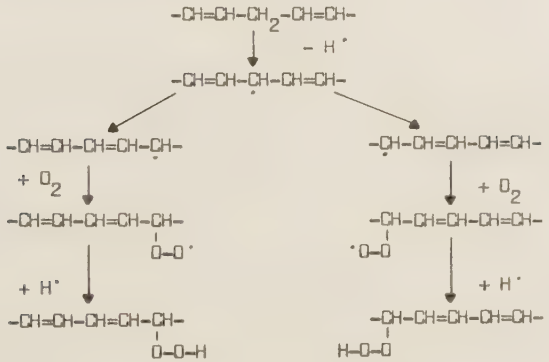
1. 4. 1. 1. Lipidperoxidation

Ungesättigte Fettsäuren sind besonders anfällig für Peroxidationen, da die Anwesenheit einer Doppelbindung die C-H-Bindung am folgenden C-Atom aus Mesomeriegründen schwächt (Sykes, 1976). Dies gilt noch mehr für die Divinylmethan-artige Teilstruktur mehrfach ungesättigter Fettsäuren:

$$-CH{=}CH-CH_2-CH{=}CH-$$

Die Anwesenheit geringer Mengen von Initiatoren oder Prooxidantien genügt, um ein aktiviertes Wasserstoffatom von der α-Methylengruppe abzuspalten, was zur Entstehung eines Lipidradikals ($L^{\cdot}$) führt (Demopoulos, 1973 b). Nach Umlagerung (Bildung konjugierter Diene) (Cohen, 1978) wird Sauerstoff addiert (Bildung eines Lipidperoxidradikals) und schließlich ein H-Atom von einem weiteren Lipid übernommen (Bildung eines Lipidhydroperoxids). Dabei entsteht ein neues Lipidradikal, das wie oben weiterreagiert (Entstehung einer Kettenreaktion). Lindquist (1968) gibt

dafür folgendes Reaktionsschema an:



1. 4. 1. 2. Folgereaktionen und Folgeprodukte

Die unimolekulare homolytische Spaltung der Lipidhydroperoxide

$$LOOH \longrightarrow LO^{\cdot} + OH^{\cdot}$$

dürfte ebenso wie die bimolekulare homolytische Spaltung

$$2\ LOOH \longrightarrow H_2O + LO^{\cdot} + LOO^{\cdot}$$

unter physiologischen Bedingungen sehr unwahrscheinlich sein (Mead, 1976). So gewinnt die Peroxidspaltung durch Katalyse von Metallionen eine überragende Bedeutung (siehe 1. 3. d)).

Neben Propagationsschritten, die zu einer Kettenreaktion führen, kann es zu Terminationsreaktionen kommen:

$$2\ R^{\cdot} \longrightarrow RR$$
$$2\ ROO^{\cdot} \longrightarrow ROOR + O_2$$
$$ROO^{\cdot} + R^{\cdot} \longrightarrow ROOR \qquad \text{(Mead, 1976)}$$

Terminationsreaktionen können demnach eine Lipidvernetzung zur Folge haben (Barber und Bernheim, 1967).

Andere mögliche Folgereaktionen und Sekundärreaktionen sind

$$HOO^{\bullet} + HOO^{\bullet} \longrightarrow H_2O_2 + O_2 \qquad \text{(Khan, 1970)}$$

$$O_2^{\bullet -} + LOOH \longrightarrow LO^{\bullet} + OH^{-} + O_2 \qquad \text{(Peters und Foote, 1976)}$$

Zusammengefaßt können also folgende Radikale und Peroxide (einschließlich Singlet-Sauerstoff) mit molekular-pathologischer Bedeutung entstehen (Demopoulos, 1973 b):

$HOO^{\bullet}$	Hydroperoxidradikale
$L^{\bullet}$	Lipidradikale
$LOO^{\bullet}$	Lipidperoxidradikale
$O_2^{\bullet -}$	Superoxidanion-radikale
$OH^{\bullet}$	Hydroxylradikale
O_2^{*}	hochangeregter "Singlet-Sauerstoff"
$HOOH$	Wasserstoffperoxid
$LOOH$	Lipidperoxide

1. 4. 1. 3. Zytopathologische Bedeutung der Lipidperoxidation

Es ist seit langem bekannt, daß die Lipidperoxide und ihre Abbauprodukte toxisch sind (Schultz et al., 1962; Aaes-Jörgensen, 1962).

Ein direktes Resultat der Lipidperoxidation stellen Schädigungen der Zellmembran dar, welche Permeabilitätsstörungen, Störungen der Erregbarkeit, Austreten von Enzymen und Hämolyse zur Folge haben können. Weitere Folgen sind Schwellung und Desintegration der Mitochondrien, strukturelle Veränderungen der Mikrosomen, Auflösung der Lysosomenmembran mit Austreten von lysosomalen Enzymen und Auflösung des endoplasmatischen Retikulums (Recknagel et al., 1977).

Die Schädigung der Zellmembranstrukturen spielt außerdem eine wichtige Rolle bei der Zellalterung (Tappel, 1973). Das Alterspigment Lipofuszin besteht nach Epstein und Gershon (1972) aus

Polymerisationsprodukten subzellulärer Organellen, deren Entstehung Peroxidationsreaktionen vorausgehen.

1. 4. 2. Wirkungen auf Proteine

Proteine können von freien Radikalen angegriffen werden, was mit einem Bruch der Polypeptidkette, mit Polymerisationen, Additionsreaktionen, Konformationsänderungen und gegebenenfalls mit einem Verlust der enzymatischen Aktivität oder der spezifischen Struktur einhergeht (Tappel, 1973).

Außerdem sind einige Enzyme membrangebunden und hängen in ihrer Aktivität von der Anwesenheit von Phospholipiden ab. Phospholipide sind zum Beispiel für die normale Funktion der mikrosomalen Enzyme G6P-ase, ATP-ase, UDP-Glucuronyl-transferase und mischfunktionelle Oxidasen erforderlich (Recknagel et al., 1977). Die Lipidperoxidation kann zum Funktionsausfall dieser Enzyme führen.

1. 4. 3. Wirkungen auf Nukleinsäuren

Freie Radikale addieren sich sehr rasch an die heterozyklischen Basen der Nukleinsäuren. Störungen der Zellfunktion und Karzinogenese können die Folge sein (Pryor, 1976).

Conroy et al. (1975) konnten die zytostatische Wirkung von trans-4-Hydroxy-2-pentenal (HPE), einem Abbauprodukt der Lipidhydroperoxide, nachweisen.

1. 5. Schutzmechanismen gegen Radikale und Radikalwirkungen in vivo

1. 5. 1. Niedriger pO_2

Ein niedriger Sauerstoff-Partialdruck im Gewebe stellt an sich einen wichtigen Schutzmechanismus gegen Peroxidationsreaktionen dar (Recknagel et al., 1977).

1. 5. 2. Vitamin E

Eine wichtige Rolle bei der Inaktivierung von Radikalen spielt

das Vitamin E (Urano und Matsuo, 1976; Cohen, 1978). Es wird bei der Radikalinaktivierung zu einem Chinon umgesetzt (Tappel, 1972; Gavino und Csallany, 1977). Slater (1978) hat allerdings gezeigt, daß Vitamin E die Lipidperoxidation gegebenenfalls auch stimulieren kann und spricht in diesem Zusammenhang von einem "cross-over-Effekt" des Vitamins.

1. 5. 3. Hemmstoffe von Singlet-Sauerstoff

Hemmstoffe zur Inaktivierung von Singlet-Sauerstoff sind neben Vitamin E (Foote et al., 1974; Brabham und Lee, 1976) Histidin (Fridovich, 1978) und β-Carotin (Foote, 1976; Fridovich, 1978).

1 Molekül Vitamin E soll 120 Moleküle Singlet-Sauerstoff inaktivieren können, bevor es selbst oxidiert wird (Fahrenholtz et al., 1974).

1. 5. 4. Superoxid-dismutasen (SOD)

1976 berichtete Fridovich über die Umsetzung von Superoxidanionradikalen mit Hilfe von Superoxid-dismutasen:

$$2\ O_2^{\cdot -} + 2\ H^+ \longrightarrow H_2O_2 + O_2$$

Es sind Mn-, Fe- und Cu-Zn-haltige Superoxid-dismutasen bekannt. Im tierischen Organismus kommen aber nur die letzteren vor (Fridovich, 1976; Fridovich, 1978). Sie sind identisch mit einer Reihe bekannter kupferhaltiger Proteine: Erythro-, Cerebro- und Hepatocuprein (Fridovich, 1976).

1. 5. 5. Katalasen und Peroxidasen

Katalasen inaktivieren spezifisch Wasserstoffperoxid:

$$2\ H_2O_2 \longrightarrow 2\ H_2O + O_2$$

Die zur Reduktion des Peroxids benötigten Elektronen entziehen sie dem Substrat selbst.

Die Peroxidasen setzen relativ unspezifisch verschiedene Peroxide um (Flohé, 1978) und entnehmen die Elektronen einem oxidierbaren Kosubstrat. Für die Inaktivierung induzierter Peroxide im tierischen Organismus spielt vor allem die selenhaltige Glutathion-peroxidase eine Rolle (Oh et al., 1974), deren Kosubstrat reduziertes Glutathion (GSH) ist (Tappel, 1972):

$$LOOH + 2\ GSH \longrightarrow LOH + H_2O + GSSG$$

Dies erklärt den bekannten synergistischen Effekt von Vitamin E und Selen.

1. 6. Wirkungsbedingungen von Radikalschäden in vivo

Das Ausmaß der Reaktionen von freien Radikalen hängt von dem Verhältnis der Reaktionsgeschwindigkeiten von Initiations-, Propagations- und Terminationsreaktionen ab (Pryor, 1976).

Eine weitere wichtige Rolle spielt das Verhältnis von antioxidativen Faktoren (Vitamin E, Glutathion, SOD, Katalase) zu prooxidativen Faktoren in unmittelbarer Umgebung der Radikalentstehung.

Schließlich ist die Unversehrtheit der Membran von Bedeutung, da eine vorgeschädigte Membran durch Radikale stärker geschädigt wird und außerdem gegebenenfalls freie Radikale in die Umgebung übertreten läßt (Demopoulos, 1973 a). Glutaraldehyd dagegen, der durch "cross-linking" die Mobilität der Lipidmoleküle einschränkt, hemmt das Aufkommen von Kettenreaktionen (Mead, 1976).

Das Vorhandensein von Chelatbildnern hat einen hemmenden Einfluß auf das Ausmaß der Lipidperoxidation (Recknagel et al., 1977). Diese Wirkung ist von D-Penicillamin, Cystein und Cysteamin bekannt und beruht auf der Bindung von Eisen und Kupfer (Demopoulos, 1973 a).

Ein niedriger Sauerstoff-Partialdruck wirkt gleichsinnig, da eine niedrige Sauerstoffkonzentration die Initiation und Propagation der Lipidperoxidation nicht begünstigt (Recknagel et al., 1977).

1. 7. Messung der Lipidperoxidation

1. 7. 1. Messung der Lipidperoxidation in vitro

Die Lipidperoxidation kann in vitro gemessen werden

- mit der ESR-Technik durch Messung des Paramagnetismus unpaariger Elektronen (Haugaard, 1968; Saprin und Piette, 1977),
- mit der Thiobarbitursäure-(TBA)-Probe durch Bestimmung von Malondialdehyd, welcher mit TBA ein rotes Pigment bildet (Dillard und Tappel, 1971; Dillard und Tappel, 1973; Plaa und Witschi, 1976),
- durch Prüfung von Gewebeextrakten auf die Anwesenheit von konjugierten Doppelbindungen mit Hilfe der UV-Spektrophotometrie (Dahle et al., 1962; Plaa und Witschi, 1976),
- durch Bestimmung der Sauerstoffabsorption mit der Warburg-manometrischen Methode (Dillard und Tappel, 1971; Dillard und Tappel, 1973),
- durch Messung des Peroxidgehaltes (Dahle et al., 1962) und
- durch Fluoreszenzspektroskopie, da Malondialdehyd mit Phosphatidyläthanolamin ein fluoreszierendes Pigment bildet (Malshet et al., 1974; Trombly et al., 1975).

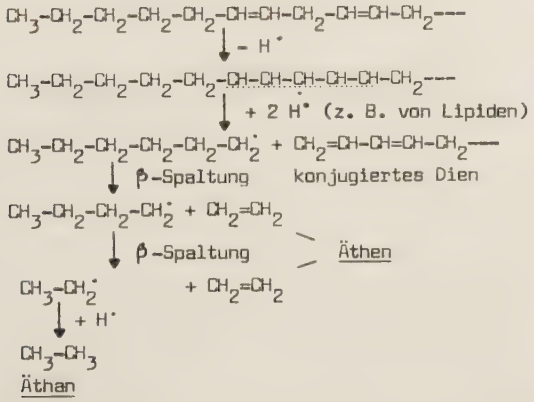
1. 7. 2. Messung der Lipidperoxidation in vivo

In vivo kann die Lipidperoxidation nachgewiesen werden durch die gaschromatographische Bestimmung flüchtiger Kohlenwasserstoffe wie Äthan (Riely et al., 1974; Dillard et al., 1976; Köster et al., 1977; Dumelin und Tappel, 1977; Frank et al., 1978), Pentan (Dillard et al., 1976; Dumelin und Tappel, 1977; Frank et al., 1978) und einiger weiterer kurzkettiger Kohlenwasserstoffe (Frank et al., 1978) in der Exspirationsluft.

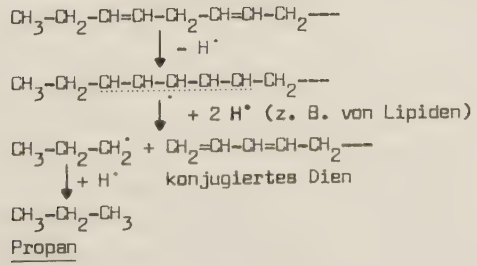
Welcher Kohlenwasserstoff entsteht, ist nach Dumelin und Tappel (1977) eher der geschädigten Fettsäure als der oxidierenden Noxe zuzuschreiben. Dumelin und Tappel (1977) konnten in vitro zeigen, daß eine Peroxidation der Linolensäure vor allem die Äthanproduktion, eine Peroxidation der Linol- und Arachidonsäure vor allem die Pentanproduktion stimuliert.

Für die Entstehung flüchtiger Kohlenwasserstoffe aus Lipiden sind folgende Reaktionen in Betracht zu ziehen (modifiziert nach Frank et al., 1978):

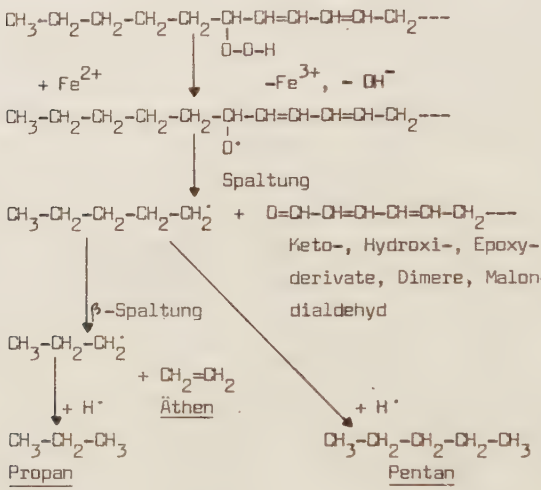
a) Abbau von ω6-ungesättigten Fettsäuren (z. B. Linolsäure, Arachidonsäure):



b) Abbau von ω3-ungesättigten Fettsäuren (z. B. Linolensäure):



c) Der Abbau von Lipidhydroperoxiden (Entstehung siehe 1. 4. 1. 1.) kann unter anderem Pentan liefern:



2. Die untersuchten Schwermetalle

2. 1. Mangan

2. 1. 1. Vorkommen, Verwendung und Bedeutung

Mangan ist am Aufbau der Erdrinde mit 0,064 % beteiligt, ist also ebenso häufig wie Schwefel und Phosphor. Die wichtigsten Erze sind: Braunstein, (MnO_2), Braunit, (Mn_2O_3), Bixbyit, ($(Mn, Fe^{3+})_2O_3$), und daneben die Manganknollen der Tiefsee (Gmelin, 1973).

Verwendet wird Mangan fast ausschließlich für die Legierung mit Eisen ("Stahleisen", "Spiegeleisen", "Ferromangan") und zur Desoxydation bei der Stahlbereitung (Hollemann und Wiberg, 1976).

Daneben finden Manganverbindungen Verwendung als Oxidationsmittel, Desinfektionsmittel, in der Glasfabrikation, bei der Batterieherstellung (Leclanché-Trockenelement), bei der Farben- und Feuerwerksherstellung, in Düngemitteln und Mineralstoffmischungen (Gmelin, 1973).

Mangan ist ein essentielles Spurenelement, dessen Bedarf mit

20 - 50 mg/kg Futter-Trockensubstanz beziffert wird (Menke und Huss, 1975). Ein Manganmangel ist häufiger als eine Manganvergiftung, insbesondere auf Moor- und Sandböden. Überdosierungen sind erst ab 1 g/kg Futter-Trockensubstanz nachteilig für Wachstum und Gesundheit der Nutztiere (Menke und Huss, 1975).

Anlaß zu Vergiftungen können sein: Gewerbliche Exposition, Industriestaub, Mineralstoffmischungen und Futtermittel, insbesondere nach Mangandüngung.

2. 1. 2. Chemische und physikalische Eigenschaften

Mangan, Mn, Ordnungszahl 25, gehört zur Nebengruppe VII b des Periodensystems und ist dem Eisen, Ordnungszahl 26, direkt benachbart, mit dem es viele Eigenschaften gemeinsam hat (Hollemann und Wiberg, 1976).

Mangan ist ein silbergraues, hartes und sehr sprödes Metall mit einer Atommasse von 54,938 und der Dichte 7,44 g/cm^3. Es hat relativ unedlen Charakter und kommt hauptsächlich in den Oxidationsstufen +2, +4 und +7 vor (Gmelin, 1973).

Mn^{2+}, das isoelektronisch mit Fe^{3+} ist, zeichnet sich durch besondere Beständigkeit gegen Oxidation (Normalpotentiale Mn^{2+}/Mn^{3+} + 1,51 V, Mn^{2+}/MnO_2 + 1,239 V und Mn^{2+}/MnO_4^- + 1,51 V) und Reduktion (Mn^{2+}/Mn^0 - 1,18 V) aus (Hollemann und Wiberg, 1976).

MnO_2, Braunstein, wirkt ziemlich stark oxidierend. Noch stärker oxidierend wirkt die wichtigste Manganverbindung, Kaliumpermanganat, $KMnO_4$, welche in saurer Lösung zu Mn^{2+} und in neutraler oder alkalischer Lösung zu MnO_2 reduziert wird (Hollemann und Wiberg, 1976).

2. 1. 3. Stoffwechselverhalten

2. 1. 3. 1. Resorption

Die Manganresorption beträgt beim Rind ca. 1 % einer oralen Einzeldosis, bei der Ratte 3 - 4 % (Venugopal und Luckey, 1975). Sie erfolgt im Dünndarm in Form einer passiven Aufnahme in die Mukosazellen und einer aktiven Abgabe an das Blut (Underwood, 1971).

Der Resorptionsumfang wird durch Eisen und Kobalt via Resorptionsmechanismus, und durch Karbonat, Silikat und Phosphat via Löslichkeitsverschlechterung von Mn^{2+} gehemmt (Underwood, 1971).

2. 1. 3. 2. Endogene Verteilung

Im Pfortaderblut ist Mangan hauptsächlich an α_2-Globuline gebunden (Underwood, 1971). Der Hauptanteil wird bei der Leberpassage aus dem Blut entfernt und mit der Galle in den Darmkanal abgeführt, wobei ein entero-hepatischer Kreislauf möglich ist (Hapke, 1975). Soweit Mn^{2+} die Leber passiert, wird es oxidiert, anschließend an Transferrin gebunden und endogen verteilt (Underwood, 1971).

Die höchsten Mangankonzentrationen (ppm der Frischsubstanz) finden sich in Knochen (3,3), Leber und Hypophyse (2,5), Pankreas (1,9) und Nieren (1,2). Die Muskulatur (0,18) enthält deutlich weniger; durch Glukokortikoide kann eine Verschiebung von der Leber in die Muskulatur erfolgen (Underwood, 1971).

Intrazellulär ist Mangan hauptsächlich an den Kern und die Mitochondrienmembranen gebunden (Venugopal und Luckey, 1975).

2. 1. 3. 3. Ausscheidung

Aus dem Blut wird Mangan mit 3 verschiedenen Geschwindigkeiten eliminiert:

- einer schnellen Phase, welche durch die "Transportform" des Mangan repräsentiert wird,

- einer mittleren Phase, welche dem mitochondrial gebundenen Mangan zuzuordnen ist und
- einer langsamen Phase, welche kerngebundenes Mangan darstellt (Underwood, 1971).

Die Ausscheidung von Mangan erfolgt hauptsächlich über den Darmkanal, in welchen resorbiertes Mangan mit der Galle und den Verdauungssäften, einschließlich Pankreassekret, gelangt (Hapke, 1975).

Die renale Ausscheidung ist von untergeordneter Bedeutung; sie läßt sich durch Chelatbildner steigern (Venugopal und Luckey, 1975).

Weitere Ausscheidungswege für Mangan sind die Milch und Hühnereier, wo die Konzentration im Dotter 4 bis 5 mal höher ist als im Weißei (Underwood, 1971). Man kann daraus den Schluß ziehen, daß Mangan in lipidlöslicher Form - wahrscheinlich in metallorganischer Verbindung - in das Ei gelangt.

2. 1. 4. Radikalbildung und -wirkungen

Bei Bakterien ist eine manganhaltige Superoxiddismutase bekannt (Fridovich, 1976; Fridovich, 1978), was auf eine indirekte Hemmung der Radikalbildung durch Mangan hinweist.

Robinson (1965) inkubierte Rattengehirnmikrosomen mit $MnCl_2$ und maß das Ausmaß der Lipidperoxidation mit der Thiobarbitursäure-Methode. Er konnte dabei keine Lipidperoxidation feststellen. Auch Lieberman und Mapson (1964) konnten nach Inkubation von Linolensäure mit Mn^{2+} weder eine Äthanbildung noch eine Äthenbildung feststellen.

Mangan scheint als wirksamer $O_2^{\cdot -}$-Fänger zu fungieren, und diese Funktion wird durch EDTA aufgehoben (Fong et al., 1976).

Auch Haugaard (1968) betrachtet Mn^{2+} als wirkungsvolle Substanz zur Verhinderung der Lipidperoxidation, da es die Peroxidbildung und die Schwellung von Mitochondrien, hervorgerufen durch Fe^{2+}, unterbinden konnte.

2. 2. Nickel

2. 2. 1. Vorkommen, Verwendung und Bedeutung

Der Anteil von Nickel am Aufbau der Erdrinde beträgt 0,0042 %, die Weltproduktion 1974 700 000 t. Es kommt, vergesellschaftet mit Schwefel, Magnesium, Arsen und Antimon in verschiedenen Erzen vor (Hollemann und Wiberg, 1976).

Nickel wird in der Stahlindustrie für Spezialstähle, für die galvanische Vernickelung von Eisenoberflächen, mit Kupfer, Chrom und Molybdän für Legierungen von besonderer Beständigkeit, für viele Gebrauchsgegenstände und Münzen, und in feinverteilter Form als Katalysator (Fetthydrierung) verwendet (Hollemann und Wiberg, 1976).

Die Toxizität von Nickel ist bei oraler Aufnahme gering (Nielsen, 1977). Eine Nickelvergiftung von Nutztieren ist nicht bekannt (Hapke, 1975).

Häufiger kommt eine Nickelallergie vor (nach Baer et al. (1973) bei 12 % aller Menschen). Eine allergische Dermatitis konnte bei Kontakt mit Schmuck, Münzen, Reißverschlüssen, Werkzeugen, Nadeln, Prothesen (Fisher und Shapiro, 1956) und selbst Kanülen (Stoddart, 1960) festgestellt werden.

Besonders gefährlich ist die Inhalation des leicht flüchtigen Nickelkarbonyls (Siedepunkt + 43 ^{o}C), das meist mit lungengängigen Partikeln von Nickel, Nickelsubsulfid und Nickeloxid vermischt ist (Sunderman et al., 1975). Diese kann aber nur in entsprechenden Betrieben vorkommen.

2. 2. 2. Chemische und physikalische Eigenschaften

Nickel, Ni, Ordnungszahl 28, gehört zur Nebengruppe VIII des Periodensystems. Es ist ein silberweißes, zähes, schmiedbares, schwach ferromagnetisches Metall mit der Atommasse 58,71 und einer Dichte von 8,908 g/cm^3 (Hollemann und Wiberg, 1976).

In seinen Verbindungen ist Nickel fast stets zweiwertig, in der dreiwertigen Form ist es nicht beständig. Die Normalpotentiale betragen für Ni/Ni^{2+} - 0,25 V und für Ni/NiO_2^- + 1,678 V. Ni^{2+} hat

daher im Gegensatz zu Fe^{2+} keine reduzierenden Eigenschaften, ebensowenig $Ni(OH)_2$. Nur durch starke Oxidationsmittel, zum Beispiel Brom in alkalischer Lösung, läßt sich Ni^{2+} zu Ni^{3+} oxidieren (Hollemann und Wiberg, 1976).

Reines Nickel wird über den $Ni(CO)_4$-Komplex (Nickelkarbonyl) dargestellt. Es ist gegen nichtoxidierende Säuren und gegen alkalische Lösungen sehr beständig (Passivität) (Hollemann und Wiberg, 1976).

2. 2. 3. Stoffwechselverhalten

2. 2. 3. 1. Resorption

Nach oraler Aufnahme wird nur ein geringer Anteil des aufgenommenen Nickels resorbiert. Schroeder et al. (1962) machen dafür einen Mechanismus verantwortlich, der die gastro-intestinale Resorption auch bei großem Angebot in der Nahrung begrenzt.

Bei inhalativer Aufnahme gibt Schroeder (1970 a; 1970 b) die Resorptionsquote mit 75 % an. 50 % werden auf der Schleimhaut und im Bronchialsekret abgelagert, um dann abgeschluckt zu werden. 25 % werden vom Lungenparenchym aufgenommen. Größer ist die Resorption und Ablagerung in der Lunge allerdings, wenn Dämpfe des gut lipidlöslichen Nickelkarbonyls eingeatmet werden (Kasprzak und Sunderman, 1969).

Auch perkutan kann Nickel aufgenommen werden, hauptsächlich durch die Schweißdrüsen und durch die Öffnungen der Haarfollikel (Wells, 1956). Das Stratum corneum stellt für die Resorption von Nickel eine schwer zu überwindende Barriere dar (Kolpakov, 1963).

2. 2. 3. 2. Endogene Verteilung

Im Serum liegt Nickel erstens in ultrafiltrierbarer Form, zweitens in albumingebundener Form, und drittens an ein Metalloprotein ("Nickeloplasmin", MM 700 000 (Nomoto et al., 1971)) gebunden vor (Sunderman et al., 1972; Van Soestbergen und Sunderman, 1972; Nomoto et al., 1973). Der ultrafiltrierbare Anteil macht ungefähr 10 % aus und besteht nicht aus reinem Ni^{2+}, sondern aus

Nickelkomplexen (Van Soestbergen und Sunderman, 1972).

Nickel zeigt keine große Neigung, sich in den Geweben anzureichern (Nielsen, 1977). Bei einer Auswertung von 1154 Gewebeproben fanden Schroeder et al. (1962), daß ein durchschnittlicher Amerikaner etwa 10 mg Nickel in seinem Körper hat. Dieser Gehalt war, mit starken regionalen Unterschieden, vor allem in der Leber (durchschnittlicher Gehalt: 1,3 ppm in der Rohasche) und in der Niere (durchschnittlicher Gehalt: 1,1 ppm in der Rohasche) konzentriert. Sie schließen daraus, daß Nickel, im Gegensatz zu Blei und Kadmium, nicht im menschlichen Organismus angereichert wird.

2. 2. 3. 3. Ausscheidung

Resorbiertes Nickel wird renal rasch ausgeschieden (Hapke, 1975). Einen wichtigen Ausscheidungsweg stellt auch der Haarwechsel (Nechay und Sunderman, 1973) und das Schwitzen (Hohnadel et al., 1973) dar. Hohnadel et al. (1973) empfehlen deswegen die Sauna als Therapie der Nickelvergiftung.

2. 2. 4. Radikalbildung und -wirkungen

Hinweise auf radikalinduzierende Eigenschaften sind bei Nickel nicht beschrieben worden. Die toxischen Wirkungen des Nickels werden auf die Reaktion mit den heterozyklischen Basen der DNA und RNA (Fuwa et al., 1960), mit SH-Gruppen von Proteinen (Lenz und Martell, 1964) sowie auf eine Kompetition und Imitation von Kalzium (Sunderman et al., 1975) zurückgeführt. Die karzinogenen Eigenschaften von Nickel diskutieren Hueper (1958) und Sunderman (1977).

2. 3. Zinn

2. 3. 1. Vorkommen, Verwendung und Bedeutung

Zinn kommt in der Natur hauptsächlich als Zinnstein (Kassiterit), SnO_2, vor. Es wird für Zinngegenstände aller Art verwendet. In Legierung mit Kupfer dient es zur Bronzeherstellung, bei Verzinnung

von Eisenblech entsteht Weißblech. Weiter findet es als Überzugsmetall, in Achslagern, als Lötzinn, in Folien (Stanniol) und Tuben Anwendung (Christen, 1974).

In der Medizin fanden Zinn und seine Verbindungen noch bis vor wenigen Jahren Anwendung bei Hautinfektionen (Furunkulose) (Barnes und Stoner, 1959). Noch heute stehen Zinnpräparate als Anthelmintika (Cestodin^{R} = Mischung aus Zinn, Zinnoxid und Zinnchlorid) zur Verfügung.

Tributylzinnsalze werden als Holzschutzmittel und Fungizide eingesetzt.

In Spuren kommt Zinn meist in der Nahrung vor. Schwarz (1971) berichtet sogar über eine essentielle Rolle des Zinns für das Wachstum von Ratten. Größere Mengen kommen in Nahrungsmitteln und Getränken vor, infolge von Korrosion unlackierter Metallkannen und zinnüberzogener Büchsen, aber auch infolge von Zinnzugabe als Farbstabilisator von Nahrungsmitteln (DeGroot et al., 1973). Wenn auch der Zinngehalt von Büchsenkonserven gewöhnlich unter 100 ppm liegt, so erhöht sich dieser Anteil doch nach längerer Lagerzeit oder bei geöffneten Büchsen schon nach wenigen Tagen (Monier-Williams, 1949). Dies mag den relativ hohen Gewebespiegel bei Menschen aus wohlhabenden Ländern erklären (Schroeder et al., 1964).

1954 kam es in Frankreich zu einer medizinalen Massenvergiftung mit über 100 Todesfällen nach Anwendung von "Stalinon" gegen Hautinfektionen mit Staphylokokken. Der Wirkstoff Diäthylzinndijodid war mit dem sehr viel giftigeren Triäthylzinnjodid verunreinigt gewesen (Barnes und Stoner, 1959).

2. 3. 2. Chemische und physikalische Eigenschaften

Zinn, Sn, Ordnungszahl 50, gehört zur IV. Hauptgruppe (Kohlenstoffgruppe) des Periodensystems. Es ist ein silberweißes, weiches, gut dehnbares Metall mit der Atommasse 118,69, das in einer weißen (Dichte 7,28 g/cm^3) und einer grauen (Dichte 5,75 g/cm^3) Modifikation vorkommt. Unterhalb 13 ^{o}C wandelt sich weißes Zinn in pulveriges graues Zinn ("Zinnpest") um (Hollemann und Wiberg, 1976).

Zinn tritt in der zweiwertigen und in der vierwertigen Oxidationsstufe auf, wovon die vierwertige Form stabiler ist. Die Normalpotentiale betragen für Sn/Sn^{2+} - 0,16 V, Sn^{2+}/Sn^{4+} + 0,15 V und $Sn(OH)_2/Sn(OH)_6^{2-}$ - 0,90 V (Hollemann und Wiberg, 1976).

2. 3. 3. Stoffwechselverhalten

2. 3. 3. 1. Resorption

Anorganische Zinnverbindungen zeigen ebenso wie metallisches Zinn geringe Wasserlöslichkeit und werden daher schlecht resorbiert (Durbin, 1960; Calloway und McMullen, 1966), kleine Mengen können jedoch aufgenommen werden (Barnes und Stoner, 1959). Organische Zinnverbindungen werden aufgrund ihrer guten Lipidlöslichkeit enteral schnell und fast vollständig resorbiert (Hapke, 1975).

2. 3. 3. 2. Endogene Verteilung

Intravenös verabreichte Sn^{2+}- und Sn^{4+}-Zitrate wurden bei Ratten und Kaninchen vor allem in Knochen, Leber und Nieren verteilt (Durbin, 1960). Organische Zinnverbindungen können die Blut-Hirn-Schranke durchdringen (Venugopal und Luckey, 1975).

2. 3. 3. 3. Ausscheidung

Die Ausscheidung erfolgt hauptsächlich über den Darm, weniger über die Nieren (Browning, 1969; Venugopal und Luckey, 1975).

2. 3. 4. Radikalbildung und -wirkungen

2. 3. 4. 1. Untersuchungen in vitro

Wood et al. (1978) untersuchten die Biomethylierung von Zinn. Sie stellten dabei folgendes Reaktionsschema auf:

$$Fe^{3+} + Sn^{2+} \longrightarrow Sn^{\cdot 3+} + Fe^{2+}$$
$$Sn^{\cdot 3+} + CH_3B_{12}(Co^{3+}) \longrightarrow (CH_3Sn)^{3+} + B_{12}(Co^{2+})$$

Es kommt also zu einem one-electron-transfer von Sn^{2+} auf Fe^{3+},

wobei ein reaktionsfähiges $Sn^{\cdot 3+}$-Radikal entsteht, das dann mit dem Methyllieferanten $CH_3B_{12}(Co^{3+})$ weiterreagiert, indem es dessen Methylgruppe homolytisch abspaltet.

Aldridge und Cremer (1955) und Aldridge (1958) beobachteten bei Behandlung von Rattenlebermitochondrien mit Diäthylzinn-dichlorid verringerten Sauerstoffverbrauch und eine Akkumulation von Pyruvat und α-Ketosäuren. Diese Wirkungen konnten durch die Zugabe von BAL verhindert werden, nicht jedoch durch Zugabe von Glutathion. Sie führten ihre Beobachtung auf eine Hemmung der α-Ketosäuren-oxidasen zurück.

Niedere Trialkylzinnsalze bis zu Trioktylzinn-chlorid und -sulfat hemmten die oxidative Phosphorylierung und die Succinatoxidation in den Mitochondrien bei einer Konzentration von 10^{-6} M. Am wirksamsten war Triäthylzinn-sulfat (Aldridge, 1958).

2. 4. Blei

2. 4. 1. Vorkommen, Verwendung und Bedeutung

Blei kommt in der Natur in Spuren ubiquitär vor, hauptsächlich als Bleiglanz (Galenit), PbS. Am Aufbau der Erdrinde ist es mit 0,0014 % beteiligt (Hollemann und Wiberg, 1976).

Die Weltproduktion betrug 1970 4 Mio. t. 36 % davon wurden für Akkumulatoren verbraucht, 25 % für Guß und Legierungen, 12 % für die Herstellung von Tetraäthylblei, 11 % für Chemie und Farben und 11 % für Kabel (Moll, 1978).

Vergiftungsquellen für Mensch und Tier können sein:

a) Bleihaltiges Trinkwasser. In Trinkwasserleitungen aus Blei wird dieses in Gegenwart von Sauerstoff gelöst: $Pb + 1/2\ O_2 + H_2O \longrightarrow Pb(OH)_2$. Je härter das Trinkwasser, desto weniger wird das Blei angegriffen, da sich in der Bleiröhre bald eine festhaftende Schicht von schwerlöslichem Bleikarbonat bzw. -sulfat bildet, die das Blei gegen weitere Auflösung schützt (Hollemann und Wiberg, 1976).

b) bleihaltige Farben. Chromgelb, $PbCrO_4$, Bleiweiß, $Pb(OH)_2 \cdot 2\ PbCO_3$, und die Rostschutzfarbe Mennige, Pb_3O_4, können bei versehentlicher

Aufnahme zu Bleivergiftungen Anlaß geben. Gefährlich sind besonders Wohnungen und Ställe aus der Zeit vor 1945, da Bleiweiß seither durch Titandioxid verdrängt wurde. Jungtiere und Kleinkinder sind am meisten gefährdet, da sie am ehesten abblätternde Farbteile von Wänden und Eisenteilen aufnehmen.

c) Bleitetraäthyl. Einen erheblichen Beitrag zur Bleikontamination der Umwelt leistet der Straßenverkehr. Das Antiklopfmittel Bleitetraäthyl lagert sich als Bleioxid, -chlorid und -bromid staubförmig zu beiden Seiten von Autostraßen in der Vegetation ab. Während der normale Bleigehalt in der Vegetation höchstens 10 ppm in der Trockensubstanz beträgt, enthält die Vegetation an den Autostraßen 50 bis 100, sogar bis 300 ppm Blei (Hapke, 1975). Um die von der Futtermittelrechtskommission der EWG vorgeschlagene duldbare Höchstmenge an Blei im Gesamtfutter von 10 ppm in der Trockensubstanz einzuhalten, müßten die Weiden im Abstand von 100 m zu einer Autobahn unbeweidet bleiben (Moll, 1978). Auch unsachgemäß beseitigtes Altöl kann zur Vergiftungsquelle werden.

d) Hüttenrauch. Bei der Gewinnung und Verarbeitung von Zink und Blei wird Blei mit dem Hüttenrauch, vornehmlich in der Hauptwindrichtung, niedergeschlagen. Dies kann zu erheblichen Konzentrationen in Futter- und Nahrungsmitteln führen.

e) Andere Vergiftungsquellen. Nur noch von historischem Interesse ist die Vergiftung durch bleigesüßten Wein, die in der Antike vorkam. Allerdings können auch heute noch Vergiftungen durch bleiglasierte Töpferwaren und selbstgebrannten Whisky vorkommen (Guinee, 1972).

2. 4. 2. Chemische und physikalische Eigenschaften

Blei, Pb, Ordnungszahl 82, gehört wie Zinn zur IV. Hauptgruppe (Kohlenstoffgruppe) des Periodensystems. Es hat die Atommasse 207,19 und eine Dichte von 11,34 g/cm^3.

Blei ist ein bläulich-graues, weiches und dehnbares Schwermetall. An der Luft bedeckt es sich mit einer dünnen Schicht von

matt-blaugrauem Bleioxid, PbO. Ebenso bildet sich eine Schutzschicht aus Bleisalzen bei Berührung mit H_2SO_4, HCl und HF.

In seinen Verbindungen ist Blei stets zwei- oder vierwertig. Die Normalpotentiale betragen für Pb/Pb^{2+} - 0,126 V und für Pb^{2+}/Pb^{4+} + 1,455 V (Hollemann und Wiberg, 1976).

Von den organischen Verbindungen sind bedeutend das Bleiazetat, $Pb(CH_3COO)_2$ (Bleizucker), Bleitetraäthyl, $Pb(C_2H_5)_4$, und Bleitetramethyl, $Pb(CH_3)_4$.

2. 4. 3. Stoffwechselverhalten

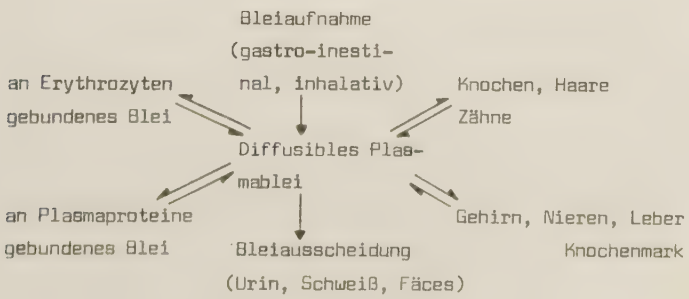
2. 4. 3. 1. Resorption

Bei oraler Aufnahme werden nur ungefähr 10 % der aufgenommenen Menge resorbiert (Goyer und Mushak, 1977). Daneben kann Blei als Bestandteil des Staubes durch Inhalation aufgenommen werden. Die Resorptionsrate des Staubes beträgt fast 100 %, wenn die Körnchengröße unter 5 µm liegt (Hapke, 1975). Organische Bleiverbindungen werden aufgrund ihrer Lipidlöslichkeit enteral und pulmonal fast vollständig resorbiert (Venugopal und Luckey, 1975).

2. 4. 3. 2. Endogene Verteilung

Nach der Resorption wird der größte Teil des Blutbleis an die Erythrozyten gebunden (95 %) (Goldberg et al., 1977). Dieser Anteil ist nicht diffusibel, befindet sich aber im Gleichgewicht mit dem Plasmablei, von dem wiederum nur ein kleiner Anteil diffusibel ist (Goyer und Mushak, 1977).

Goyer und Mushak (1977) geben folgendes Schema der Bleiverteilung:



Organische Bleiverbindungen werden zu einem Teil abgebaut, wobei anorganisches Blei frei wird. Der größte Anteil davon akkumuliert allerdings im ZNS (Venugopal und Luckey, 1975).

Rabinowitz et al. (1973) fanden bei Studien mit radioaktiv markiertem ^{204}Pb, daß sich die Bleiverteilung am besten mit einem 3-Kompartment-Modell beschreiben läßt: Kompartment 1 enthält das am leichtesten diffusible Blei, das heißt einen Teil des Blutbleis und den leichter austauschbaren Bleigehalt der Weichteilgewebe. Kompartment 2 enthält das übrige Weichteilblei und den leichter austauschbaren Anteil des Knochenbleis. Kompartment 3 schließlich enthält das am festesten gebundene Knochenblei. Letzteres hat eine biologische Halbwertszeit von über 20 Jahren, während diese für das Blutblei 27 Tage beträgt.

Der Bleigehalt der Weichteilgewebe steht in direktem Zusammenhang mit den toxischen Wirkungen des Bleis. Die Einlagerung in die Knochen stellt primär eine Entgiftung dar. Allerdings wird das Blei daraus allmählich wieder freigesetzt, beschleunigt bei verstärkter Kalziummobilisierung (Gravidität, Laktation, Hunger, Hypophosphatämie, besondere körperliche Anstrengungen, Streß) (Hapke, 1975).

2. 4. 3. 3. Ausscheidung

Blei wird hauptsächlich über die Nieren ausgeschieden, ein kleiner Anteil auch mit dem Schweiß und durch intestinale Exkretion (Goyer und Mushak, 1977).

2. 4. 3. 4. Rückstandsbildung

Blei bildet schwerlösliche Phosphate und wird daher in die Knochen eingelagert. Wenn die Aufnahmekapazität der Knochen überschritten wird, reichert sich Blei in den Weichteilen an, was zu Vergiftungssymptomen führt (Chisolm, 1971). Da hiervon hauptsächlich Leber und Nieren betroffen sind, sind diese Organe bei Schlachttieren für den menschlichen Verzehr als untauglich zu beurteilen.

2. 4. 4. Radikalbildung und -wirkungen

2. 4. 4. 1. Untersuchungen in vitro

Die Zellmembran ist der erste und wichtigste Ort der Wirkung eines Schwermetalles (Passow et al., 1961), und manche Wirkungen des Pb^{2+} auf Membranen stützen die Hypothese der Lipidperoxidation.

So hat Blei in vitro auf die Erythrozyten folgende Wirkungen: Raschen Kaliumverlust (Joyce et al., 1954; Oerskov, 1935) und eine drastische Verminderung des intrazellulären ATP (Lindemann und Passow, 1960). Die Zellen verlieren KCl, ohne gleichzeitig entsprechende Mengen an Natrium aufzunehmen (Joyce et al., 1954; Vincent und Blackburn, 1958). Die Folge ist, daß die Erythrozyten schrumpfen. Die Geschwindigkeit des Kaliumverlustes geht weit über das hinaus, was aufgrund der Hemmung der Transportenzyme und des Mangels an ATP erwartet werden dürfte (Passow et al., 1961), so daß man annehmen könnte, daß Pb^{2+} die Permeabilität durch Lipidperoxidation erhöht. Diese erhöhte Kaliumpermeabilität nach Bleivorbehandlung wiesen Lindemann und Passow (1960) auch an der isolierten Erythrozytenmembran nach.

Levander et al. (1977 b) stellten fest, daß Bleivergiftung und Vitamin E-Mangel synergistisch die Deformierbarkeit von Erythrozyten, gemessen als Filtrierdauer in einem Polykarbonatfilter, erhöhten.

Die Schädigung der peripheren Nerven bei chronischer Bleivergiftung ist zum Teil auf eine Schädigung der Mitochondrien der Schwannschen Zellen zurückzuführen (Chisolm, 1971). Scott et al. (1971) fanden, daß Blei die Kaliumpermeabilität von Mitochondrien erhöhte, was ein Anschwellen in KCl-Lösung zur Folge hatte. In submitochondrialen Partikeln wurde die Succinatoxidation gehemmt (Scott et al., 1971).

Gelman et al. (1979) konnten allerdings bei in vitro - Studien mit Rattenhirnmikrosomen keine erhöhten Malondialdehydwerte nach Bleiapplikation finden, und auch Levander et al. (1977 d) fanden die osmotische Fragilität von Erythrozyten nach Bleiapplikation nicht erhöht.

2. 4. 4. 2. Untersuchungen in vivo

Unabhängig von der Hemmung der Hämsynthese fanden Berk et al. (1970) bei einem bleivergifteten Patienten, daß Blei einen direkten hämolytischen Effekt auf die Erythrozyten hat. Dies wurde durch die verkürzte Halbwertszeit ^{51}Cr- und ^{59}Fe-markierter Erythrozyten nachgewiesen. Eine EDTA-Therapie konnte die Hemmung der Hämsynthese rasch zum Stillstand bringen, nicht jedoch die Hämolyse.

Levander et al. (1975) fanden, daß Blei bei Vitamin E-mangelernährten Ratten eine verstärkte Hämolyse hervorrief. Die gleichen Autoren (Levander et al., 1977 a) stellten außerdem bei Ratten einen protektiven Effekt des Vitamin E gegen die bleibedingte Milzschwellung und Hämatokritsenkung fest. Diese protektive Wirkung konnten sie bei Applikation von Selen dagegen nur in sehr abgeschwächter Form beobachten (Levander et al., 1977 c).

Sifri und Hoekstra (1978) applizierten Bleiazetat an Vitamin E- und Selen-mangelernährte Ratten und maßen die Äthanexspiration nach der von Riely et al. (1974) beschriebenen Methode. Gegenüber Kontrolltieren zeigten die bleibehandelten Tiere eine signifikant erhöhte Äthanexspiration. Tiere, die sich im Vitamin E- und Selen-Mangel befanden, die aber kein Blei in der Ration hatten, zeigten ebenfalls eine Äthanexspiration, die aber deutlich hinter der von bleibehandelten Tieren zurückblieb.

Dasselbe Experiment führten Ramstoeck et al. (1980) an Vitamin E- und Selen-mangelernährten Ratten durch. Sie verabreichten Trimethyl- und Triäthylbleiazetat. Nach Applikation von Trimethylbleiazetat fanden sie eine dosisabhängige Äthanexspiration, nach Applikation von Triäthylbleiazetat eine dosisabhängige Äthan- und Äthenexspiration. Letztere wurden von ihnen allerdings kritisch gewertet, da Triäthylbleiazetat in vitro erhebliche Mengen von Äthan und Äthen freisetzte.

III. EIGENE UNTERSUCHUNGEN

1. Problemstellung

Problemstellung der vorliegenden Arbeit ist die experimentelle Untersuchung von Mangan(II)-, Nickel(II)-, Zinn(II)- und Blei(II)-ionen auf radikalbildende Eigenschaften in vivo.

Hierzu ist die Exspirationsluft von Versuchstieren, wie von Riely et al. (1974) beschrieben, nach Applikation der Metallionen auf flüchtige Kohlenwasserstoffe untersucht worden, welche als Zerfallsprodukte radikalgeschädigter Membranlipide (Peroxidbildung) anfallen (Übersicht bei Cohen, 1978).

2. Versuchsplan

Die Anlage der durchgeführten Untersuchungen geht aus Tabelle 1 hervor.

Tab. 1: Bestimmungshäufigkeit der Exspirationsluft als Funktion von Schwermetalldosis und Meßzeitpunkt

Metall-verbindung	Dosis (mg Me^{2+}/kg)	Zeit post applicationem (min)		
		60	120	180
Manganazetat $Mn(CH_3COO)_2$	16,6	4	4	4
	37,0	4	4	4
	56,0	4	4	4
Nickelazetat $Ni(CH_3COO)_2$	2,9	4	4	4
	6,6	4	4	4
	15,0	4	4	4

Me^{2+}: Schwermetallion

Fortsetzung von Tab. 1:

Metall-verbindung	Dosis (mg Me^{2+}/ kg)	Zeit post applicationem (min)		
		60	120	180
Zinnsulfat $SnSO_4$	114	4	4	4
	172	4	4	4
	214	4	4	4
	257	4	4	4
	322	4	4	4
Bleiazetat $Pb(CH_3COO)_2$	93	4	4	4
	139	4	4	4
	209	4	4	4
	313	4	4	4
	470	4	4	4

3. Untersuchungsmethodik

3. 1. Versuchstiere, Versuchstierhaltung und -fütterung

Als Versuchstiere dienten konventionell gehaltene männliche und weibliche weiße Mäuse aus der Zucht des Institutes mit einer Körpermasse von durchschnittlich 35 g.

Die Tiere erhielten bis zum Versuchsbeginn die Haltungsdiät für Mäuse und Ratten Nr. 1320 der Fa. ALTROMIN, Lage/Lippe, und aqua font. ad libitum.

Das Futter hatte folgende Zusammensetzung bzw. Eigenschaften (nach Herstelleranqaben):

Umsetzbare Energie 13000 kJ/kg

Rohnährstoffe (Masse% in der Diät)

Rohprotein	19,0
Rohfett	4,0
Rohfaser	6,0
Asche	7,0
Wasser	13,5
N-freie Extraktstoffe	50,5

Mineralstoffe (Masse% in der Diät)

Natrium	0,2
Magnesium	0,2
Calcium	0,9
Phosphor	0,7

Vitaminzusätze (mg/kg Diät, wenn nicht anders angegeben)

Vit. A	15000	I. E.
Vit. D_3	600	I. E.
Vit. E	75	
Vit. K_3	3	
Vit. B_1	18	
Vit. B_2	12	
Vit. B_6	9	
Vit. B_{12}	24	mcg
Nikotinsäure	36	
Pantothensäure	21	
Folsäure	2	
Biotin	60	mcg
Cholin	600	
Vit. C	36	

Aminosäuren (Masse% in der Diät)

Lysin	0,9
Methionin und Cystin	0,6
Phenylalanin und Tyrosin	1,4
Arginin	1,1
Histidin	0,4
Tryptophan	0,2
Threonin	0,6
Isoleucin	0,9
Leucin	1,3
Valin	0,9

Spurenelemente (mg/kg Diät)

Mangan	75,0
Eisen	135,0
Kupfer	13,0
Zink	70,0
Jod	0,9
Fluor	9,0

3. 2. Gewinnung der Exspirationsluft

Zur Gewinnung der Exspirationsluft wurden die Versuchstiere in einen Exsikkator aus Glas mit einem Leervolumen von 850 ml verbracht, welcher über ein Sperrventil mit hochgereinigtem Sauerstoff (99,99995 Vol% O_2; LINDE, Unterschleißheim) bei druckloser Zufuhr versorgt wurde.

Der Exsikkator war zur CO_2-Absorption mit 100 g Atemkalk (DRÄGER-Werke, Lübeck) beschickt, wobei das absorbierte Kohlendioxid durch nachfließenden Sauerstoff ersetzt wurde.

Die Gasentnahme aus dem Exsikkator erfolgte mit einer HAMILTON-Gasspritze. Dazu wurde die Nadel der leeren Spritze durch ein Silikongummiseptum in den Exsikkator eingeführt und der Spritzenstempel mehrfach hin und her bewegt. Dann wurden 10 ml Gas entnommen, von welchen 5 ml zur Analyse auf kurzkettige Kohlenwasserstoffe kamen.

3. 3. Versuchsdurchführung

Die untersuchten Schwermetallsalze sind vor der Applikation in aqua dest. gelöst und mit Natriumazetat (Schwermetallazetate) bzw. Natriumsulfat (Zinnsulfat) auf Gewebeisotonie gebracht worden.

Die Applikation der Salzlösungen erfolgte intraperitoneal in einem Volumen von 25 ml/kg Körpermasse.

Nach der Applikation sind die Versuchstiere sofort in den Exsikkator verbracht worden, wo sie auf einem Drahtnetz über dem Atemkalk saßen. Dann wurde der Exsikkator, dessen Nettovolumen ca. 610 ml betrug, 5 Minuten lang mit synthetischer Luft (20 Vol% O_2 plus 80 Vol% N_2; LINDE, Unterschleißheim) gespült und schließlich an die Sauerstoffversorgung angeschlossen (Versuchszeitpunkt 0).

Für einen Versuch ist der Exsikkator stets mit 2 männlichen und 2 weiblichen Mäusen beschickt worden.

3. 4. Chemikalien und Referenzgase

Zur Durchführung der eigenen Untersuchungen sind folgende Chemikalien bzw. Referenzgase verwendet worden:

a) Mangan(II)-acetat-4-hydrat ($(CH_3COO)_2Mn \cdot 4\ H_2O$) reinst
MERCK, Darmstadt

b) Nickel(II)-acetat-4-hydrat ($(CH_3COO)_2Ni \cdot 4\ H_2O$) reinst
MERCK, Darmstadt

c) Zinn(II)-sulfat ($SnSO_4$) reinst
MERCK, Darmstadt

d) Blei(II)-acetat-3-hydrat ($(CH_3COO)_2Pb \cdot 3\ H_2O$) zur Analyse
MERCK, Darmstadt

e) Natriumacetat-3-hydrat ($CH_3COONa \cdot 3\ H_2O$) zur Analyse
MERCK, Darmstadt

f) Natriumsulfat (Na_2SO_4) zur Analyse
MERCK, Darmstadt

g) Methan (CH_4), Äthan (C_2H_6), Propan (C_3H_8) und n-Butan (C_4H_{10}) je 100 µl/l N_2, Prüfgas
LINDE, Unterschleißheim

h) Äthen (C_2H_4), Propen (C_3H_6), cis-2-Buten und trans-2-Buten (C_4H_8), je 100 µl/l N_2, Prüfgas
LINDE, Unterschleißheim

i) Dräger-Sorb 650, CH 508
DRÄGER, Lübeck

3. 5. Kohlenwasserstoffbestimmung im Exsikkatorgas

Die Kohlenwasserstoffbestimmung im Exsikkatorgas erfolgte mit einem Gaschromatographen der Fa. HEWLETT-PACKARD (HP 5830 A) unter Verwendung eines Flammenionisationsdetektors. Als Trennsäule diente eine 6 Fuß (1,83 m) lange Stahlsäule mit einer Füllung von Porapak Q der Korngröße 80-100 mesh. Die Arbeitstemperaturen betrugen beim Einspritzblock 150, bei der Säule 100 und beim Detektor 200 °C.

Als Trägergas diente nachgereinigter Stickstoff (LINDE, Unterschleißheim) mit einer Durchflußgeschwindigkeit von 40 ml/min.

Die Kohlenwasserstoffe der Gasproben wurden als Peaks aufgezeichnet und ihre Fläche als Konzentrationsparameter verwendet. Hierzu wurden die Peaks auf Transparentpapier übertragen, ausgeschnitten und gewogen.

4. Versuchsauswertung

Die Chromatogramme der Exsikkatorgase sind qualitativ und quantitativ auf flüchtige Kohlenwasserstoffe ausgewertet worden.

4. 1. Qualitative Auswertung

Ziel der qualitativen Versuchsauswertung war die Bestimmung der

von den applizierten Schwermetallsalzen induzierten Kohlenwasserstoffe in der Exspirationsluft der Versuchstiere. Dazu sind die Gaschromatogramme von unbehandelten Kontroll- und behandelten Testgruppen verglichen und die d o s i s a b h ä n g i g e n Mehrpeaks bei den Testgruppen anhand von Referenzgasen, Retentionszeiten und "Spiking" (Peakflächenvergrößerung durch zugemischte Referenzgase) identifiziert worden.

4. 2. Quantitative Auswertung

4. 2. 1. Eichkurven

Die quantitative Versuchsauswertung erfolgte mit Hilfe von Eichkurven unter Verwendung der einschlägigen Referenzgase. Dabei ergab sich in allen Fällen ein linearer Zusammenhang zwischen Gaskonzentration und Peakflächenmasse, welcher durch Regressionsgleichungen der allgemeinen Form

$F = a + bC\ (E)$

mit a, b: Konstanten (substanzspezifisch)

C: Gaskonzentration (µl/l)

F: Peakflächenmasse (E)

E: Masseneinheit (10^{-2} mg)

beschrieben werden konnte. Die aus den Meßwerten berechneten stoffspezifischen Konstanten und die Korrelationskoeffizienten (r) für den Zusammenhang zwischen Peakflächenmasse und Gaskonzentration sowie die statistische Beurteilung der Korrelationskoeffizienten sind in Tabelle 2 zusammengefaßt.

Tab. 2: Eichkurvenparameter für Äthan und Äthen sowie deren statistische Beurteilung

Gas	a	b	r	p <
CH_3-CH_3	-26,9	28117,1	0,9961	0,001
CH_2=CH_2	-26,1	22330,2	0,9946	0,001

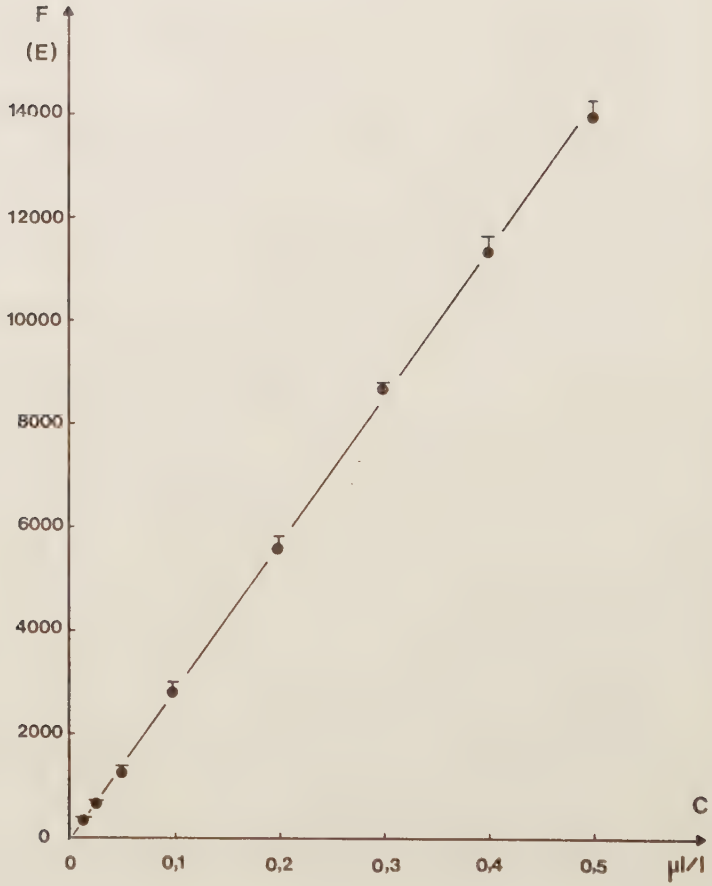


Abb. 1: Eichkurve für Äthan
(Eingetragene Punkte stellen $\bar{x} + s_{\bar{x}}$ dar.)

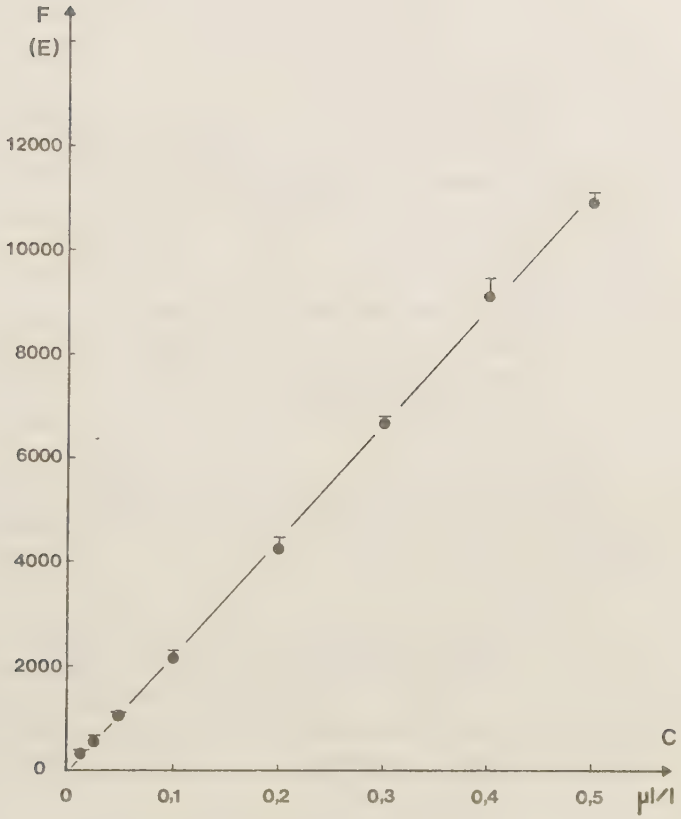


Abb. 2: Eichkurve für Äthen

4. 2. 2. Berechnung der Kohlenwasserstoffexspiration

Aus der Peakflächenmasse ist die während der Versuchsdauer im Exsikkator akkumulierte Kohlenwasserstoffmenge (M) pro kg Versuchstier nach folgender Formel berechnet worden:

$$M = \frac{44{,}64 \cdot (F - a) \cdot V}{b \cdot TM} \qquad (nmol/kg \cdot t)$$

wobei die verwendeten Symbole folgende Bedeutung haben:

a, b: Eichkurvenparameter aus Tabelle 2
F: Peakflächenmasse (E)
TM: Gesamtmasse der Versuchstiergruppe (g)
M: Kohlenwasserstoffmenge (nmol/kg·t)
t: Versuchsdauer (min)
V: Nettovolumen des Exsikkators (ml)

5. Ergebnisse

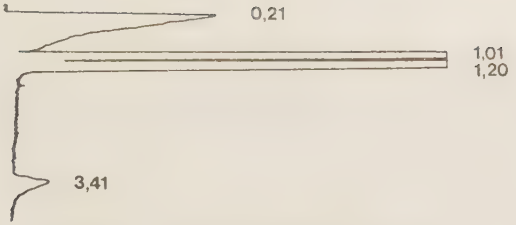
Auf die beschriebene Weise sind folgende Untersuchungsergebnisse gewonnen worden:

5. 1. Blindwerte

5. 1. 1. Blindwerte ohne Versuchstiere

Abbildung 3 zeigt ein typisches Gaschromatogramm des Exsikkatorgases nach 180 Minuten langer Versuchsdauer ohne Versuchstiere.

Die dargestellten Peaks repräsentieren keine Kohlenwasserstoffe und sind insofern unspezifisch.

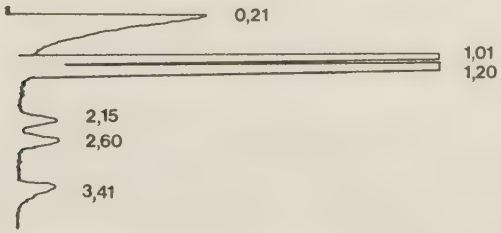


Retentionszeit (min)	Substanz
0,21	unspezifisch
1,01	O_2
1,20	CO_2
3,41	unspezifisch

Abb. 3: Gaschromatogramm ohne Versuchstiere
(Zahlen bedeuten Bruttoretentionszeiten in min)

5. 1. 2. Vergleichschromatogramm

Abbildung 4 zeigt ein Gaschromatogramm des Exsikkatorgases nach Spülung mit N_2 und Zumischung von je 0,05 µl/l Äthan und Äthen. Die Retentionszeiten betrugen 2,15 min (Äthen) und 2,60 min (Äthan).

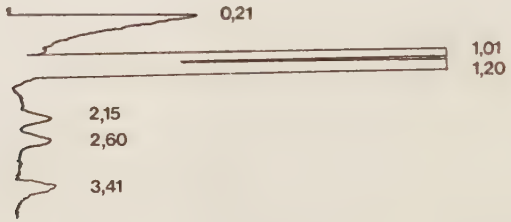


Retentionszeit (min)	Substanz
0,21	unspezifisch
1,01	O_2
1,20	CO_2
2,15	$CH_2=CH_2$
2,60	CH_3-CH_3
3,41	unspezifisch

Abb. 4: Gaschromatogramm nach Zumischung von je 0,05 µl/l Äthan und Äthen

5. 1. 3. Blindwerte mit Versuchstieren

Abbildung 5 zeigt ein typisches Gaschromatogramm des Exsikkatorgases nach 180 Minuten langer Versuchsdauer mit unbehandelten Versuchstieren.



Retentionszeit (min)	Substanz
0,21	unspezifisch
1,01	O_2
1,20	CO_2
2,15	$CH_2=CH_2$
2,60	CH_3-CH_3
3,41	unspezifisch

Abb. 5: Gaschromatogramm von unbehandelten Versuchstieren

Ein Vergleich mit den Abbildungen 3 und 4 zeigt, daß zwei Peaks mit Retentionszeiten von 2,15 und 2,60 Minuten vorliegen, welche als Äthen- (2,15 min) bzw. Äthanpeak (2,60 min) identifiziert werden konnten.

Eine quantitative Auswertung dieser Peaks ergab die in den Tabellen 3 und 4 zusammengefaßten Befunde.

Tab. 3: Äthanexspiration von unbehandelten Versuchstieren (nmol/kg·t)

t (min)	60	120	180
	$n = 6$	$n = 6$	$n = 6$
	$\bar{x} = 4,21$	$\bar{x} = 4,78$	$\bar{x} = 5,03$
	$s_{\bar{x}} = 0,23$	$s_{\bar{x}} = 0,40$	$s_{\bar{x}} = 0,40$

n: Stichprobenumfang

$\bar{x}$: arithmetischer Mittelwert

$s_{\bar{x}}$: Standardabweichung von $\bar{x}$

Tab. 4: Äthenexspiration von unbehandelten Versuchstieren (nmol/kg·t)

t (min)	60	120	180
	$n = 6$	$n = 6$	$n = 6$
	$\bar{x} = 4,30$	$\bar{x} = 5,38$	$\bar{x} = 5,56$
	$s_{\bar{x}} = 0,16$	$s_{\bar{x}} = 0,26$	$s_{\bar{x}} = 0,35$

5. 2. Kontrollversuche

Zur Abschätzung des Anioneneinflußes (SO_4^{2-} bzw. CH_3COO^-) auf die Kohlenwasserstoffexspiration sind Kontrollversuche mit den entsprechenden Natriumsalzen durchgeführt worden.

5. 2. 1. Kontrollversuche mit Natriumazetat

Die Kontrollversuche mit Natriumazetat ergaben eine Äthan- und Äthenexspiration, welche jener der unbehandelten Versuchstiere vergleichbar ist, wie aus den Tabellen 5 und 6 hervorgeht.

Tab. 5: Äthanexspiration (nmol/kg·t) nach intraperitonealer Verabreichung von Natriumazetat (25 ml/kg in 3,37 %iger wässeriger Lösung)

t (min)	60	120	180
	$n = 12$ $\bar{x} = 2,68$ $s_{\bar{x}} = 0,10$	$n = 12$ $\bar{x} = 3,29$ $s_{\bar{x}} = 0,18$	$n = 12$ $\bar{x} = 4,21$ $s_{\bar{x}} = 0,17$

Tab. 6: Äthenexspiration (nmol/kg·t) nach intraperitonealer Verabreichung von Natriumazetat (25 ml/kg in 3,37 %iger wässeriger Lösung)

t (min)	60	120	180
	$n = 12$ $\bar{x} = 3,20$ $s_{\bar{x}} = 0,12$	$n = 12$ $\bar{x} = 4,66$ $s_{\bar{x}} = 0,26$	$n = 12$ $\bar{x} = 5,24$ $s_{\bar{x}} = 0,20$

5. 2. 2. Kontrollversuche mit Natriumsulfat

Die Kontrollversuche mit Natriumsulfat führten zum gleichen Ergebnis wie die Versuche mit Natriumazetat, wie die Tabellen 7 und 8 zeigen.

Tab. 7: Äthanexspiration (nmol/kg·t) nach intraperitonealer Verabreichung von Natriumsulfat (25 ml/kg in 3,95 %iger wässeriger Lösung)

t (min)	60	120	180
	$n = 4$ $\bar{x} = 2,60$ $s_{\bar{x}} = 0,07$	$n = 4$ $\bar{x} = 3,17$ $s_{\bar{x}} = 0,46$	$n = 4$ $\bar{x} = 4,46$ $s_{\bar{x}} = 0,28$

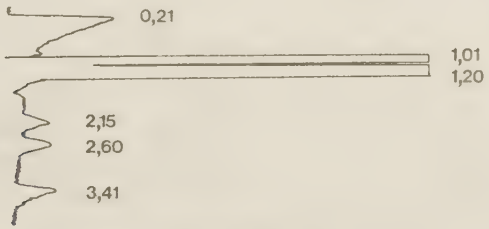
Tab. 8: Äthenexspiration (nmol/kg·t) nach intraperitonealer Verabreichung von Natriumsulfat (25 ml/kg in 3,95 %iger wässeriger Lösung

t (min)	60	120	180
	$n = 4$ $\bar{x} = 4,22$ $s_{\bar{x}} = 0,25$	$n = 4$ $\bar{x} = 5,15$ $s_{\bar{x}} = 0,51$	$n = 4$ $\bar{x} = 6,08$ $s_{\bar{x}} = 0,57$

5. 3. Testversuche

5. 3. 1. Testversuche mit Manganazetat

Ein typisches Gaschromatogramm nach Belastung der Versuchstiere mit Manganazetat zeigt Abbildung 6. Weitere Peaks mit Retentionszeiten ≤ 120 Minuten sind bei der Verabreichung von Manganazetat nicht aufgetreten.



Retentionszeit (min)	Substanz
0,21	unspezifisch
1,01	O_2
1,20	CO_2
2,15	$CH_2{=}CH_2$
2,60	$CH_3{-}CH_3$
3,41	unspezifisch

Abb. 6: Gaschromatogramm nach Verabreichung von Manganazetat (56 mg Mn^{2+} pro kg Körpermasse)

Abbildung 6 zeigt, daß das Gaschromatogramm nach der Gabe von Manganazetat einen Äthenpeak mit einer Retentionszeit von 2,15 Minuten und einen Äthanpeak mit einer Retentionszeit von 2,60 Minuten aufweist.

Bei quantitativer Untersuchung der Kohlenwasserstoffexspiration nach Applikation verschiedener Manganazetatdosen sind die in Tabelle 9 und 10 zusammengefaßten Befunde erhoben worden. Sie sind in den Abbildungen 7, 8, 9 und 10 graphisch dargestellt.

Tab. 9: Äthanexspiration nach Verabreichung von Manganazetat (nmol/kg·t)

Dosis ($mg\ Mn^{2+}/kg$)	t (min)		
	60	120	180
16,6	$n = 4$ $\bar{x} = 2,92$ $s_{\bar{x}} = 0,20$	$n = 4$ $\bar{x} = 3,48$ $s_{\bar{x}} = 0,26$	$n = 4$ $\bar{x} = 4,12$ $s_{\bar{x}} = 0,22$
37,0	$n = 4$ $\bar{x} = 2,52$ $s_{\bar{x}} = 0,38$	$n = 4$ $\bar{x} = 3,21$ $s_{\bar{x}} = 0,20$	$n = 4$ $\bar{x} = 4,68$ $s_{\bar{x}} = 0,63$
56,0	$n = 4$ $\bar{x} = 3,19$ $s_{\bar{x}} = 0,42$	$n = 4$ $\bar{x} = 3,83$ $s_{\bar{x}} = 0,27$	$n = 4$ $\bar{x} = 4,26$ $s_{\bar{x}} = 0,28$

Höhere Dosen konnten nicht verabreicht werden, da sich bei höheren Dosen bereits während der Versuchsdauer Todesfälle ereigneten.

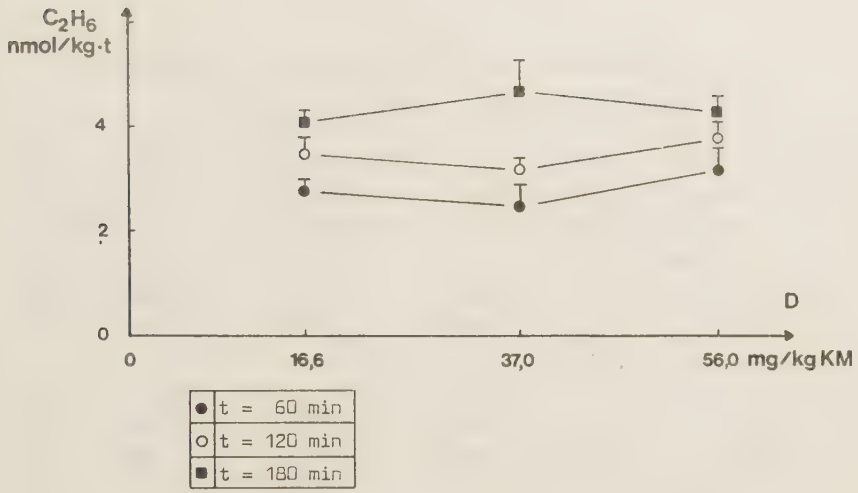


Abb. 7: Äthanexspiration als Funktion der Mangandosis

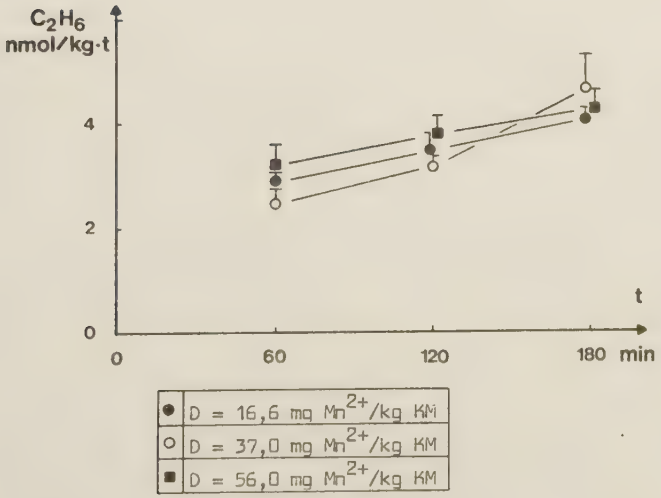


Abb. 8: Zeitabhängigkeit der Äthanexspiration nach Manganverabreichung

Tab. 10: Äthenexspiration nach Verabreichung von Manganazetat (nmol/kg·t)

Dosis (mg Mn^{2+}/kg)	t (min)		
	60	120	180
16,6	n = 4 $\bar{x}$ = 3,05 $s_{\bar{x}}$ = 0,07	n = 4 $\bar{x}$ = 4,42 $s_{\bar{x}}$ = 0,48	n = 4 $\bar{x}$ = 5,10 $s_{\bar{x}}$ = 0,24
37,0	n = 4 $\bar{x}$ = 2,59 $s_{\bar{x}}$ = 0,32	n = 4 $\bar{x}$ = 3,82 $s_{\bar{x}}$ = 0,44	n = 4 $\bar{x}$ = 5,97 $s_{\bar{x}}$ = 1,20
56,0	n = 4 $\bar{x}$ = 2,74 $s_{\bar{x}}$ = 0,22	n = 4 $\bar{x}$ = 3,98 $s_{\bar{x}}$ = 0,46	n = 4 $\bar{x}$ = 4,29 $s_{\bar{x}}$ = 0,32

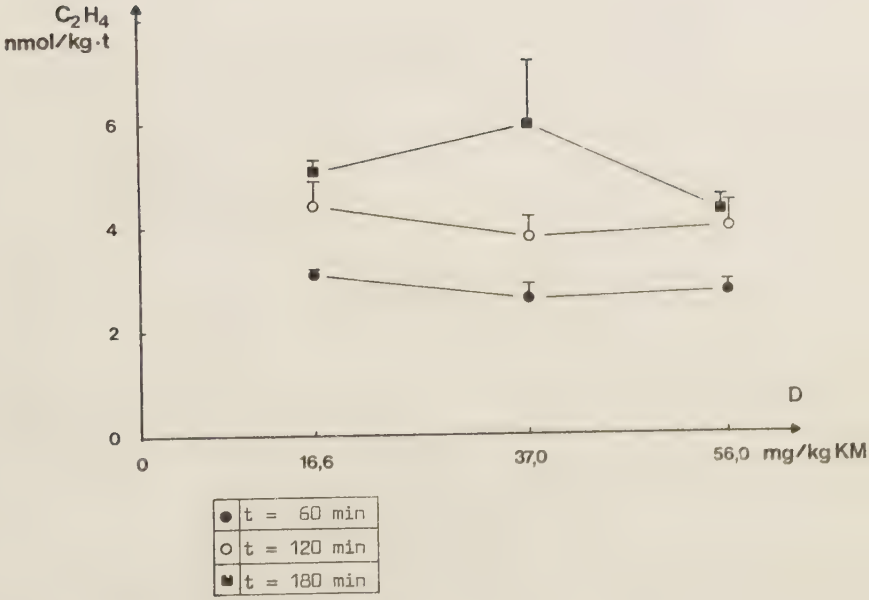
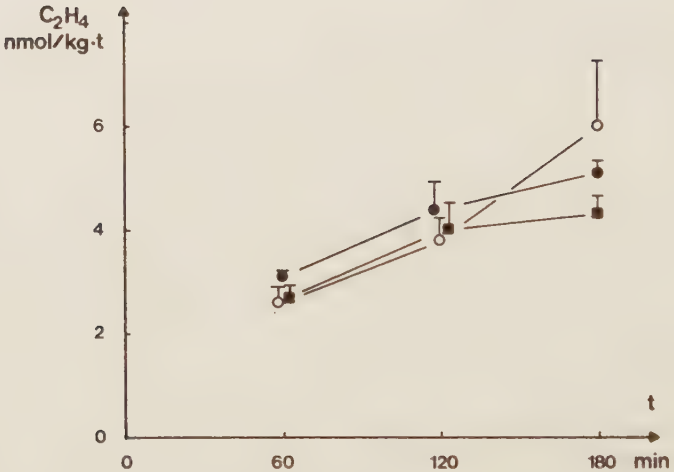


Abb. 9: Äthenexspiration als Funktion der Mangandosis

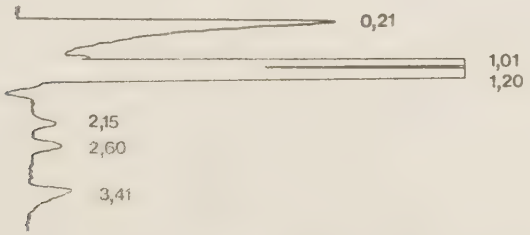


●	D = 16,6 mg Mn^{2+}/kg KM
○	D = 37,0 mg Mn^{2+}/kg KM
■	D = 56,0 mg Mn^{2+}/kg KM

Abb. 10: Zeitabhängigkeit der Äthenexspiration nach Manganverabreichung

5. 3. 2. Testversuche mit Nickelazetat

Ein typisches Gaschromatogramm nach Belastung der Versuchstiere mit Nickelazetat zeigt Abbildung 11. Weitere Peaks mit Retentionszeiten ≤ 120 Minuten sind bei der Verabreichung von Nickelazetat nicht aufgetreten.



Retentionszeit (min)	Substanz
0,21	unspezifisch
1,01	O_2
1,20	CO_2
2,15	$CH_2{=}CH_2$
2,60	$CH_3{-}CH_3$
3,41	unspezifisch

Abb. 11: Gaschromatogramm nach Verabreichung von Nickelazetat (15 mg Ni^{2+} pro kg Körpermasse)

Abbildung 11 zeigt, daß das Gaschromatogramm nach der Gabe von Nickelazetat einen Äthenpeak mit einer Retentionszeit von 2,15 Minuten und einen Äthanpeak mit einer Retentionszeit von 2,60 Minuten aufweist.

Bei quantitativer Untersuchung der Kohlenwasserstoffexspiration nach Applikation verschiedener Nickelazetatdosen sind die in Tabelle 11 und 12 zusammengefaßten Befunde erhoben worden. Sie sind in den Abbildungen 12, 13, 14 und 15 graphisch dargestellt.

Tab. 11: Äthanexspiration nach Verabreichung von Nickelazetat (nmol/kg·t)

Dosis (mg Ni^{2+}/kg)	t (min)		
	60	120	180
2,9	n = 4 $\bar{x}$ = 2,80 $s_{\bar{x}}$ = 0,30	n = 4 $\bar{x}$ = 3,75 $s_{\bar{x}}$ = 0,08	n = 4 $\bar{x}$ = 4,25 $s_{\bar{x}}$ = 0,38
6,6	n = 4 $\bar{x}$ = 2,83 $s_{\bar{x}}$ = 0,31	n = 4 $\bar{x}$ = 3,56 $s_{\bar{x}}$ = 0,37	n = 4 $\bar{x}$ = 5,03 $s_{\bar{x}}$ = 0,29
15,0	n = 4 $\bar{x}$ = 2,36 $s_{\bar{x}}$ = 0,30	n = 4 $\bar{x}$ = 3,67 $s_{\bar{x}}$ = 0,29	n = 4 $\bar{x}$ = 4,73 $s_{\bar{x}}$ = 0,22

Höhere Dosen konnten nicht verabreicht werden, da sich bei höheren Dosen bereits während der Versuchsdauer Todesfälle ereigneten.

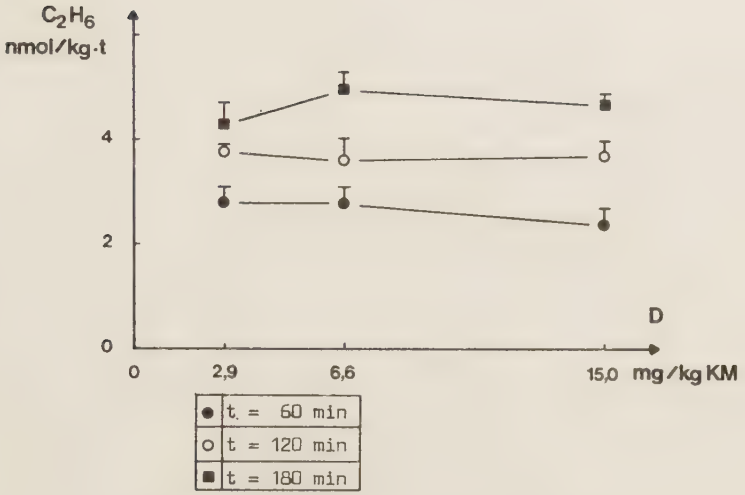


Abb. 12: Äthanexspiration als Funktion der Nickeldosis

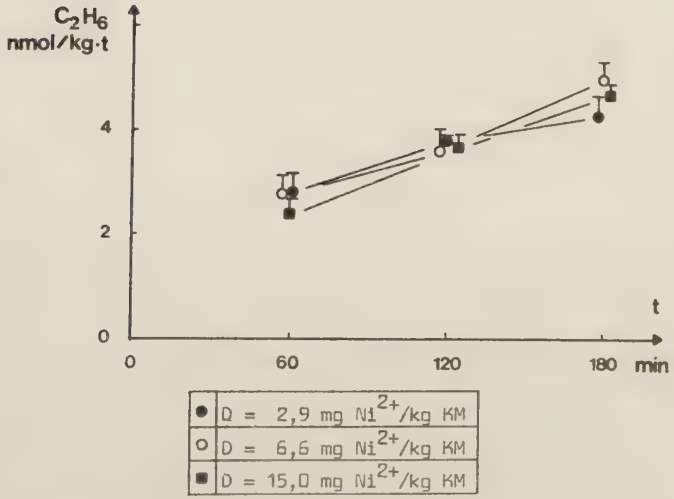


Abb. 13: Zeitabhängigkeit der Äthanexspiration nach Nickelverabreichung

Tab. 12: Äthenexspiration nach Verabreichung von Nickelazetat (nmol/kg.t)

Dosis (mg Ni^{2+}/kg)	t (min)		
	60	120	180
2,9	n = 4 $\bar{x}$ = 3,18 $s_{\bar{x}}$ = 0,35	n = 4 $\bar{x}$ = 4,40 $s_{\bar{x}}$ = 0,34	n = 4 $\bar{x}$ = 5,85 $s_{\bar{x}}$ = 0,27
6,6	n = 4 $\bar{x}$ = 2,81 $s_{\bar{x}}$ = 0,24	n = 4 $\bar{x}$ = 3,67 $s_{\bar{x}}$ = 0,14	n = 4 $\bar{x}$ = 5,82 $s_{\bar{x}}$ = 0,20
15,0	n = 4 $\bar{x}$ = 2,77 $s_{\bar{x}}$ = 0,32	n = 4 $\bar{x}$ = 3,89 $s_{\bar{x}}$ = 0,37	n = 4 $\bar{x}$ = 5,55 $s_{\bar{x}}$ = 0,40

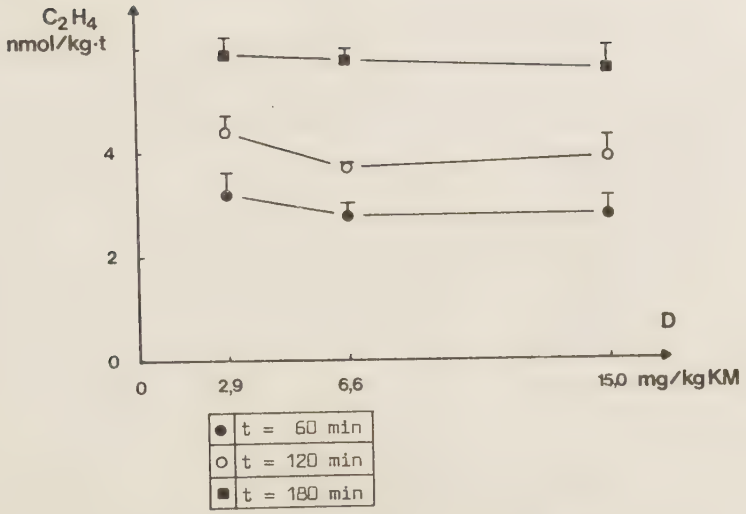


Abb. 14: Äthenexspiration als Funktion der Nickeldosis

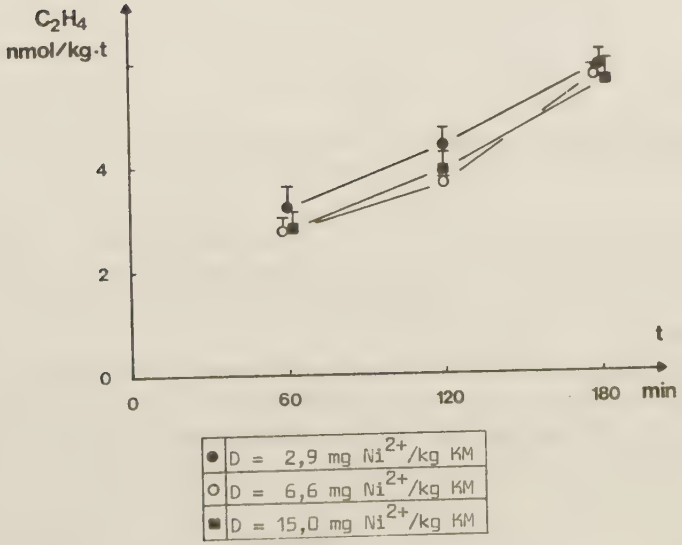
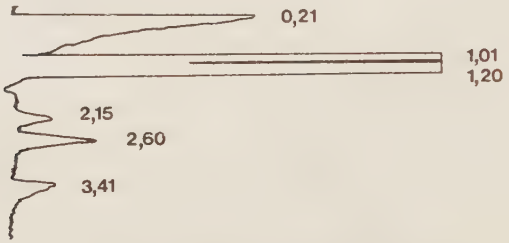


Abb. 15: Zeitabhängigkeit der Äthenexspiration nach Nickelverabreichung

5. 3. 3. Testversuche mit Zinnsulfat

Ein typisches Gaschromatogramm nach Belastung der Versuchstiere mit Zinnsulfat zeigt Abbildung 16. Weitere Peaks mit Retentionszeiten ≤ 120 Minuten sind bei der Verabreichung von Zinnsulfat nicht aufgetreten.



Retentionszeit (min)	Substanz
0,21	unspezifisch
1,01	O_2
1,20	CO_2
2,15	$CH_2{=}CH_2$
2,60	$CH_3{-}CH_3$
3,41	unspezifisch

Abb. 16: Gaschromatogramm nach Verabreichung von Zinnsulfat (322 mg Sn^{2+} pro kg Körpermasse)

Abbildung 16 zeigt, daß das Gaschromatogramm nach Gabe von Zinnsulfat einen Äthenpeak mit einer Retentionszeit von 2,15 Minuten und einen Äthanpeak mit einer Retentionszeit von 2,60 Minuten aufweist.

Bei quantitativer Untersuchung der Kohlenwasserstoffexspiration nach Applikation verschiedener Zinnsulfatdosen sind die in Tabelle 13 und 14 zusammengefaßten Befunde erhoben worden. Sie sind in den Abbildungen 17, 18, 19 und 20 graphisch dargestellt.

Tab. 13: Äthanexspiration nach Verabreichung von Zinnsulfat (nmol/kg·t)

Dosis (mg Sn^{2+}/kg)	t (min)		
	60	120	180
114	n = 4 $\bar{x}$ = 2,84 $s_{\bar{x}}$ = 0,11	n = 4 $\bar{x}$ = 5,36 $s_{\bar{x}}$ = 0,46	n = 4 $\bar{x}$ = 5,28 $s_{\bar{x}}$ = 0,51
172	n = 4 $\bar{x}$ = 2,64 $s_{\bar{x}}$ = 0,11	n = 4 $\bar{x}$ = 4,03 $s_{\bar{x}}$ = 0,08	n = 4 $\bar{x}$ = 5,72 $s_{\bar{x}}$ = 0,36
214	n = 4 $\bar{x}$ = 4,24 $s_{\bar{x}}$ = 0,90	n = 4 $\bar{x}$ = 6,93 $s_{\bar{x}}$ = 0,69	n = 4 $\bar{x}$ = 9,10 $s_{\bar{x}}$ = 0,94
257	n = 4 $\bar{x}$ = 5,87 $s_{\bar{x}}$ = 1,04	n = 4 $\bar{x}$ = 8,20 $s_{\bar{x}}$ = 1,40	n = 4 $\bar{x}$ = 10,61 $s_{\bar{x}}$ = 1,01
322	n = 4 $\bar{x}$ = 6,55 $s_{\bar{x}}$ = 1,11	n = 4 $\bar{x}$ = 9,33 $s_{\bar{x}}$ = 0,90	n = 4 $\bar{x}$ = 12,60 $s_{\bar{x}}$ = 0,58

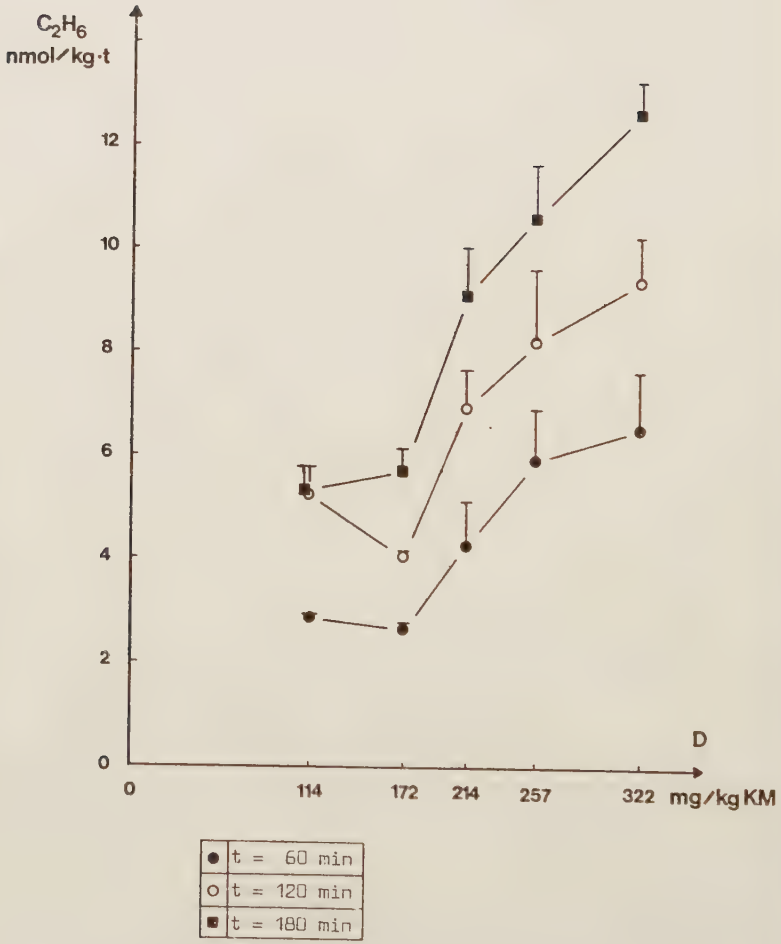
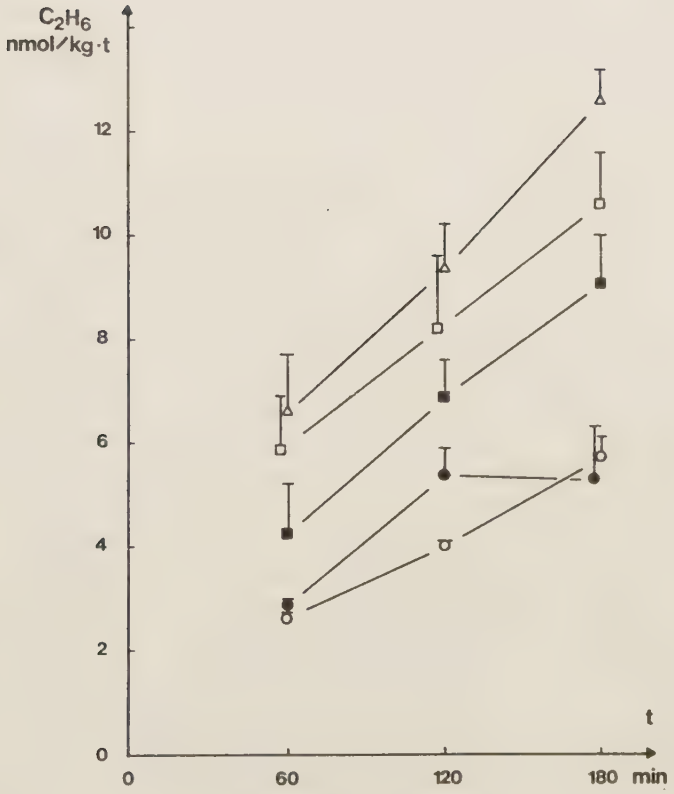


Abb. 17: Äthanexspiration als Funktion der Zinndosis



●	D = 114 mg Sn^{2+}/kg KM
○	D = 172 mg Sn^{2+}/kg KM
■	D = 214 mg Sn^{2+}/kg KM
□	D = 257 mg Sn^{2+}/kg KM
△	D = 322 mg Sn^{2+}/kg KM

Abb. 18: Zeitabhängigkeit der Äthanexspiration nach Zinnverabreichung

Tab. 14: Äthenexspiration nach Verabreichung von Zinnsulfat (nmol/kg·t)

Dosis (mg Sn^{2+}/kg)	t (min)		
	60	120	180
114	n = 4 $\bar{x}$ = 3,56 $s_{\bar{x}}$ = 0,06	n = 4 $\bar{x}$ = 5,83 $s_{\bar{x}}$ = 0,45	n = 4 $\bar{x}$ = 5,67 $s_{\bar{x}}$ = 0,38
172	n = 4 $\bar{x}$ = 3,06 $s_{\bar{x}}$ = 0,08	n = 4 $\bar{x}$ = 4,27 $s_{\bar{x}}$ = 0,29	n = 4 $\bar{x}$ = 5,19 $s_{\bar{x}}$ = 0,08
214	n = 4 $\bar{x}$ = 3,86 $s_{\bar{x}}$ = 0,64	n = 4 $\bar{x}$ = 6,12 $s_{\bar{x}}$ = 0,95	n = 4 $\bar{x}$ = 6,67 $s_{\bar{x}}$ = 0,57
257	n = 4 $\bar{x}$ = 3,25 $s_{\bar{x}}$ = 0,25	n = 4 $\bar{x}$ = 4,81 $s_{\bar{x}}$ = 0,80	n = 4 $\bar{x}$ = 5,65 $s_{\bar{x}}$ = 0,43
322	n = 4 $\bar{x}$ = 4,07 $s_{\bar{x}}$ = 0,13	n = 4 $\bar{x}$ = 4,94 $s_{\bar{x}}$ = 0,10	n = 4 $\bar{x}$ = 6,23 $s_{\bar{x}}$ = 0,26

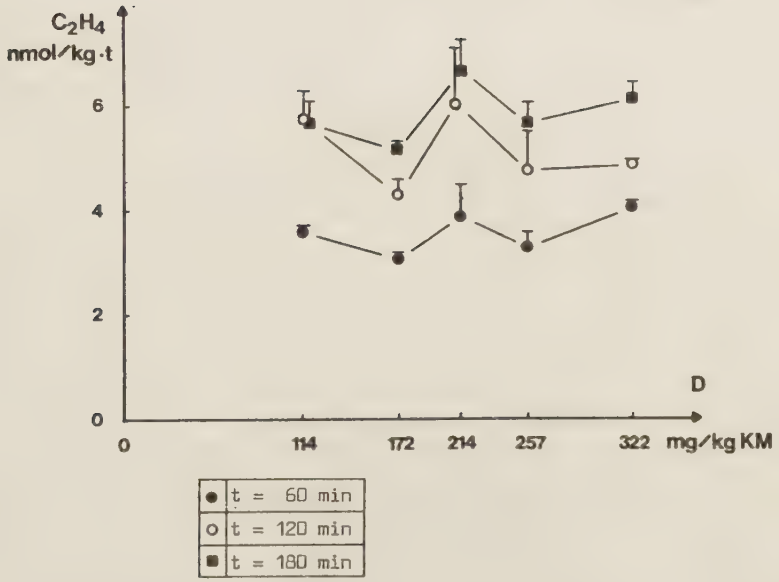


Abb. 19: Äthenexspiration als Funktion der Zinndosis

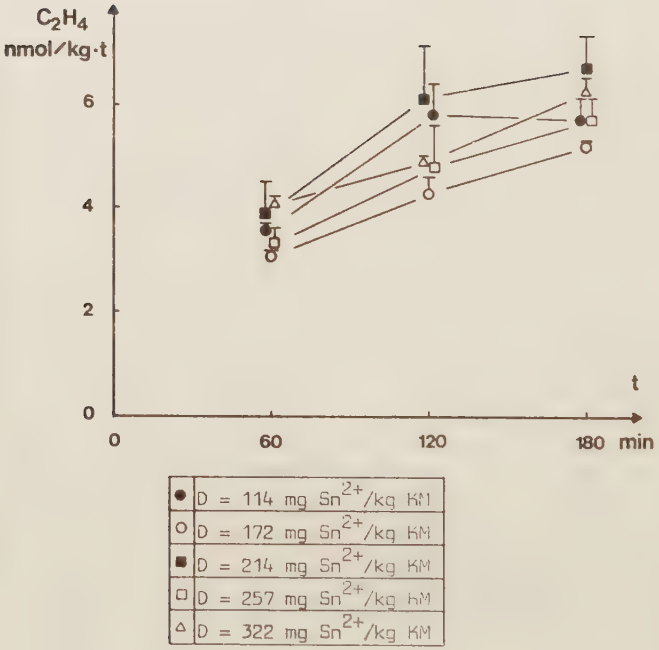
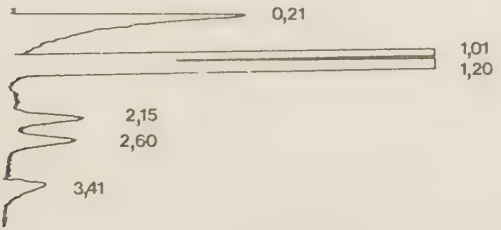


Abb. 20: Zeitabhängigkeit der Äthenexspiration nach Zinnverabreichung

5. 3. 4. Testversuche mit Bleiazetat

Ein typisches Gaschromatogramm nach Belastung der Versuchstiere mit Bleiazetat zeigt Abbildung 21. Weitere Peaks mit Retentionszeiten ≤ 120 Minuten sind bei der Verabreichung von Bleiazetat nicht aufgetreten.



Retentionszeit (min)	Substanz
0,21	unspezifisch
1,01	O_2
1,20	CO_2
2,15	$CH_2{=}CH_2$
2,60	$CH_3{-}CH_3$
3,41	unspezifisch

Abb. 21: Gaschromatogramm nach Verabreichung von Bleiazetat (470 mg Pb^{2+} pro kg Körpermasse)

Abbildung 21 zeigt, daß das Gaschromatogramm nach der Gabe von Bleiazetat einen Äthenpeak mit einer Retentionszeit von 2,15 Minuten und einen Äthanpeak mit einer Retentionszeit von 2,60 Minuten aufweist.

Bei quantitativer Untersuchung der Kohlenwasserstoffexspiration nach Applikation verschiedener Bleiazetatdosen sind die in Tabelle 15 und 16 zusammengefaßten Befunde erhoben worden. Sie sind in den Abbildungen 22, 23, 24 und 25 graphisch dargestellt.

Tab. 15: Äthanexspiration nach Verabreichung von Bleiazetat (nmol/kg·t)

Dosis (mg Pb^{2+}/kg)	t (min)		
	60	120	180
93	n = 4 $\bar{x}$ = 2,98 $s_{\bar{x}}$ = 0,05	n = 4 $\bar{x}$ = 3,44 $s_{\bar{x}}$ = 0,32	n = 4 $\bar{x}$ = 4,50 $s_{\bar{x}}$ = 0,24
139	n = 4 $\bar{x}$ = 2,75 $s_{\bar{x}}$ = 0,23	n = 4 $\bar{x}$ = 4,04 $s_{\bar{x}}$ = 0,30	n = 4 $\bar{x}$ = 6,13 $s_{\bar{x}}$ = 0,26
209	n = 4 $\bar{x}$ = 2,67 $s_{\bar{x}}$ = 0,05	n = 4 $\bar{x}$ = 3,03 $s_{\bar{x}}$ = 0,12	n = 4 $\bar{x}$ = 6,19 $s_{\bar{x}}$ = 0,31
313	n = 4 $\bar{x}$ = 2,72 $s_{\bar{x}}$ = 0,12	n = 4 $\bar{x}$ = 4,77 $s_{\bar{x}}$ = 0,48	n = 4 $\bar{x}$ = 7,76 $s_{\bar{x}}$ = 0,36
470	n = 4 $\bar{x}$ = 4,91 $s_{\bar{x}}$ = 0,80	n = 4 $\bar{x}$ = 7,71 $s_{\bar{x}}$ = 0,30	n = 4 $\bar{x}$ = 13,31 $s_{\bar{x}}$ = 1,01

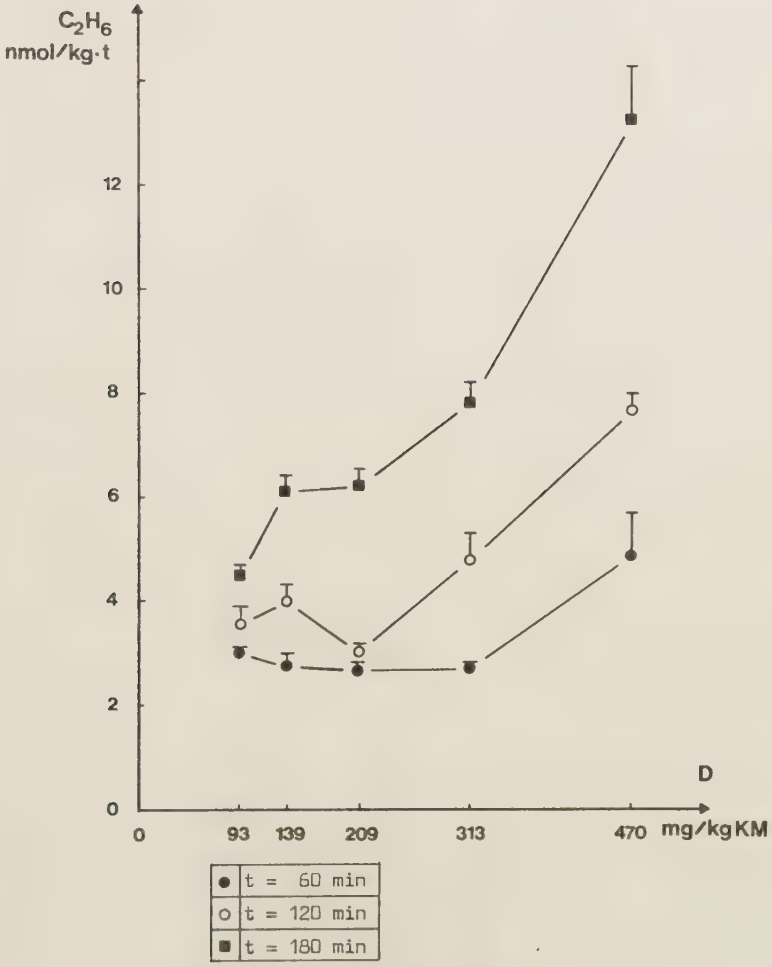


Abb. 22: Äthanexspiration als Funktion der Bleidosis

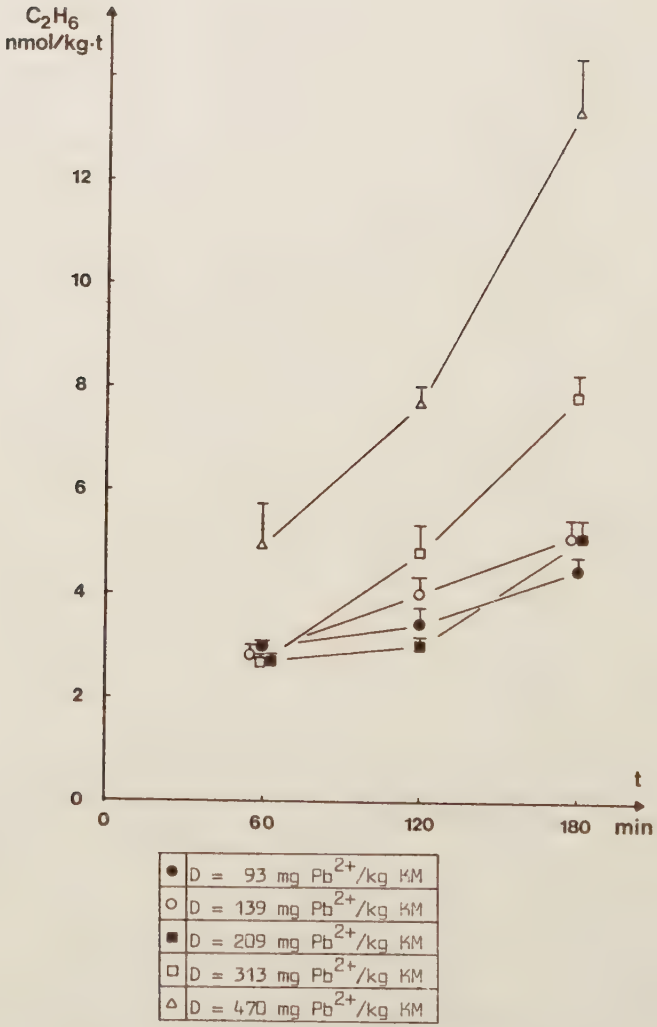


Abb. 23: Zeitabhängigkeit der Äthanexspiration nach Bleiverabreichung

Tab. 16: Äthenexspiration nach Verabreichung von Bleiazetat (nmol/kg·t)

Dosis ($mg\ Pb^{2+}/kg$)	t (min)		
	60	120	180
93	$n = 4$ $\bar{x} = 4,18$ $s_{\bar{x}} = 0,19$	$n = 4$ $\bar{x} = 5,50$ $s_{\bar{x}} = 0,09$	$n = 4$ $\bar{x} = 7,51$ $s_{\bar{x}} = 0,36$
139	$n = 4$ $\bar{x} = 3,44$ $s_{\bar{x}} = 0,27$	$n = 4$ $\bar{x} = 5,05$ $s_{\bar{x}} = 0,44$	$n = 4$ $\bar{x} = 7,66$ $s_{\bar{x}} = 0,47$
209	$n = 4$ $\bar{x} = 3,39$ $s_{\bar{x}} = 0,06$	$n = 4$ $\bar{x} = 4,35$ $s_{\bar{x}} = 0,15$	$n = 4$ $\bar{x} = 8,11$ $s_{\bar{x}} = 0,73$
313	$n = 4$ $\bar{x} = 5,38$ $s_{\bar{x}} = 0,60$	$n = 4$ $\bar{x} = 8,41$ $s_{\bar{x}} = 0,98$	$n = 4$ $\bar{x} = 15,10$ $s_{\bar{x}} = 1,88$
470	$n = 4$ $\bar{x} = 6,58$ $s_{\bar{x}} = 1,45$	$n = 4$ $\bar{x} = 9,91$ $s_{\bar{x}} = 1,05$	$n = 4$ $\bar{x} = 15,73$ $s_{\bar{x}} = 1,43$

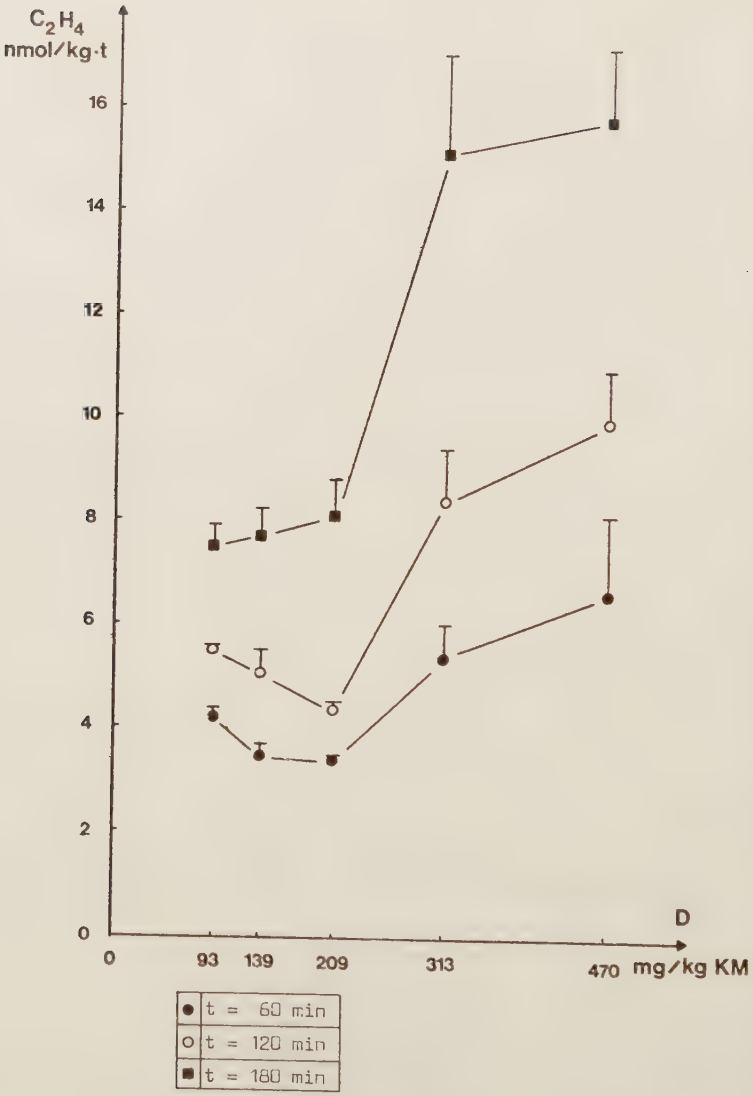


Abb. 24: Äthenexspiration als Funktion der Bleidosis

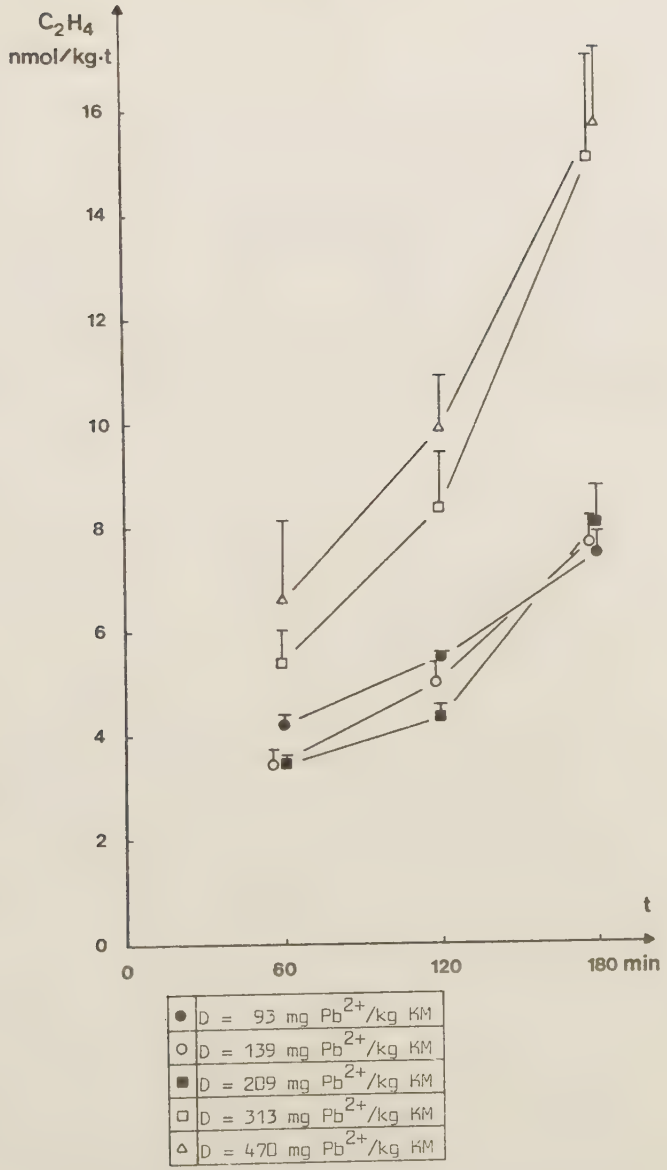


Abb. 25: Zeitabhängigkeit der Äthenexspiration nach Bleiverabreichung

6. Statistische Beurteilung der Ergebnisse

6. 1. Nachweisgrenzen

Zur Festlegung der Nachweisgrenze wird unterstellt, daß die Meßergebnisse x_i der Kontrollversuche eine t-Verteilung aufweisen.

Unter dieser Voraussetzung gilt bei der vorliegenden einseitigen Fragestellung (Testexspiration größer als Kontrollexspiration?), daß Meßwerte y_i der Testversuche mit Schwermetallsalzen, welche die folgende Beziehung erfüllen:

$$y \leq NG \text{ mit}$$
$$NG = \bar{x} + ks_{\bar{x}} \text{ und}$$

NG: Nachweisgrenze,
$s_{\bar{x}}$: Standardabweichung von $\bar{x}$,
k: Prüfgröße der t-Verteilung für die Irrtumswahrscheinlichkeit p und
$\bar{x}$: Arithmetischer Mittelwert der Kontrollversuche,

von den Kontrollwerten statistisch nicht differenzierbar, d. h., wie Kontrollwerte zu beurteilen sind. Wird die Nachweisgrenze von Testwerten dagegen überschritten, so sind diese von den Kontrollwerten mit der gewählten Irrtumswahrscheinlichkeit verschieden und zeigen damit eine schwermetallbedingte Steigerung der spontanen Kohlenwasserstoffexspiration an.

Die nach obiger Beziehung berechneten Nachweisgrenzen sind in der folgenden Tabelle angegeben.

Tab. 17: Nachweisgrenzen für die untersuchten Schwermetallazetate und -sulfate

KW	Schwermetallazetate			
	p <	t (min)		
		60	120	180
Äthan	0,05	2,86	3,61	4,52
	0,01	2,95	3,78	4,67
Äthen	0,05	3,42	5,13	5,60
	0,01	3,53	5,37	5,78
KW	Schwermetallsulfate			
	p <	t (min)		
		60	120	180
Äthan	0,05	2,77	4,25	5,12
	0,01	2,92	5,26	5,73
Äthen	0,05	4,81	6,35	7,42
	0,01	5,36	7,47	8,67

KW: Kohlenwasserstoff

6. 2. Schwermetallabhängigkeit der Äthan- und Äthenexspiration

Anhand der vorstehenden Nachweisgrenzen dürfen die in den folgenden 2 Tabellen mit $p<0,05$ bezeichneten Versuchsergebnisse als statistisch gesichert gelten.

Tab. 18: Irrtumswahrscheinlichkeiten (p) für eine signifikante Stimulation der Äthanexspiration

Dosis (mg/kg)	t (min)		
	60	120	180
Mangan(II)-ionen			
16,6	< 0,05	> 0,05	> 0,05
37,0	> 0,05	> 0,05	< 0,01
56,0	< 0,01	< 0,01	> 0,05
Nickel(II)-ionen			
2,9	> 0,05	< 0,05	> 0,05
6,6	> 0,05	> 0,05	< 0,01
15,0	> 0,05	< 0,05	< 0,01

Fortsetzung von Tabelle 18:

Dosis (mg/kg)	t (min)		
	60	120	180
Zinn(II)-ionen			
114	< 0,05	< 0,01	< 0,05
172	> 0,05	> 0,05	< 0,05
214	< 0,01	< 0,01	< 0,01
257	< 0,01	< 0,01	< 0,01
322	< 0,01	< 0,01	< 0,01
Blei(II)-ionen			
93	< 0,01	> 0,05	> 0,05
139	> 0,05	< 0,01	< 0,01
209	> 0,05	> 0,05	< 0,01
313	> 0,05	< 0,01	< 0,01
470	< 0,01	< 0,01	< 0,01

Tab. 19: Irrtumswahrscheinlichkeiten (p) für eine signifikante Stimulation der Äthenexspiration

Dosis (mg/kg)	t (min)		
	60	120	180
Mangan(II)-ionen			
16,6	> 0,05	> 0,05	> 0,05
37,0	> 0,05	> 0,05	< 0,01
56,0	> 0,05	> 0,05	> 0,05
Nickel(II)-ionen			
2,9	> 0,05	> 0,05	< 0,01
6,6	> 0,05	> 0,05	< 0,05
15,0	> 0,05	> 0,05	> 0,05

Fortsetzung von Tabelle 19:

Dosis (mg/kg)	t (min)		
	60	120	180
Zinn(II)-ionen			
114	> 0,05	> 0,05	> 0,05
172	> 0,05	> 0,05	> 0,05
214	> 0,05	> 0,05	> 0,05
257	> 0,05	> 0,05	> 0,05
322	> 0,05	> 0,05	> 0,05
Blei(II)-ionen			
93	< 0,01	< 0,01	< 0,01
139	< 0,05	> 0,05	< 0,01
209	> 0,05	< 0,01	< 0,01
313	< 0,01	< 0,01	< 0,01
470	< 0,01	< 0,01	< 0,01

Aus den vorstehenden Tabellen ergibt sich, daß nur die höheren Dosen von Sn^{2+} und Pb^{2+} die Äthanexspiration durchgehend signifikant stimulierten; die Äthenexspiration wurde nur durch die höheren Dosen von Pb^{2+} durchgehend signifikant stimuliert.

6. 3. Dosisabhängigkeit der Äthan- und Äthenexspiration

Wenn die vorstehende Beurteilung der Testergebnisse zutreffend ist, muß sich zeigen lassen, daß die Kohlenwasserstoffexspiration

- der wirksamen Schwermetallionen eine positive Korrelation mit der Dosis aufweist, wogegen bei
- den unwirksamen Ionen kein solcher Zusammenhang herstellbar sein darf.

Zur Untersuchung dieser Forderung ist die Abhängigkeit der Äthan- und Äthenexspiration der Testversuche von der Schwermetalldosis nach DIXON und MOOD (Sachs, 1978) mit folgendem Resultat geprüft worden (einseitige Fragestellung):

Tab. 20: Irrtumswahrscheinlichkeiten (p) für eine positive Korrelation zwischen Kohlenwasserstoffexspiration und Schwermetalldosis

Schwermetallion	Äthan	Äthen
Mn^{2+}	> 0,025	> 0,025
Ni^{2+}	> 0,025	> 0,025
Sn^{2+}	< 0,005	> 0,025
Pb^{2+}	< 0,005	< 0,005

Aus vorstehender Tabelle ergibt sich, daß die Äthanexspiration mit der Sn^{2+}- und der Pb^{2+}-Dosis, und die Äthenexspiration mit der Pb^{2+}-Dosis signifikant ansteigt; in allen anderen Fällen ist ein solcher Zusammenhang nicht nachweisbar.

Diese Schlußfolgerung deckt sich mit der Beurteilung der Kohlenwasserstoffexspiration anhand der Nachweisgrenzen.

6. 4. Zeitabhängigkeit der Äthan- und Äthenexspiration

Schließlich sind die Testergebnisse noch auf einen möglichen Zusammenhang zwischen Kohlenwasserstoffexspiration und Versuchsdauer t mit dem in Tabelle 21 zusammengefaßten Ergebnis nach DIXON und MOOD (Sachs, 1978) überprüft worden.

Tab. 21: Irrtumswahrscheinlichkeiten (p) für eine positive Korrelation zwischen Kohlenwasserstoffexspiration und Versuchsdauer

Schwermetallion	Äthan	Äthen
Mn^{2+}	< 0,005	< 0,005
Ni^{2+}	< 0,005	< 0,005
Sn^{2+}	< 0,005	< 0,005
Pb^{2+}	< 0,005	< 0,005

Tabelle 21 zeigt, daß in allen Fällen, also auch bei Verabreichung von Schwermetallionen, die keine Stimulation der Äthan- bzw. Äthenexspiration verursachten, ein statistisch gesicherter Konzentrationsanstieg mit zunehmender Versuchsdauer vorliegt.

IV. DISKUSSION

Im folgenden soll zunächst zur Methodik der durchgeführten Untersuchungen, dann zu den Ergebnissen Stellung genommen werden.

1. Methodik

Der Nachweis von Äthan und Pentan in der Exspirationsluft von Versuchstieren ist als Indikator für in vivo ablaufende Lipidperoxidationsvorgänge weithin anerkannt (Riely et al., 1974; Dillard et al., 1976; Köster et al., 1977; Dumelin und Tappel, 1977; Cohen, 1978; Tappel, 1978; Schmid, 1979; Schmid und Christoph, 1980).

Weniger Klarheit besteht hinsichtlich des Auftretens von Äthen in der Exspirationsluft, das nach Lieberman und Hochstein (1966), Dumelin und Tappel (1977) sowie Frank et al. (1978) ebenfalls als Hinweis auf eine Lipidperoxidation durch Radikale und/oder Peroxide angesehen werden kann.

Die genaue Entstehungsweise dieser Kohlenwasserstoffe aus den geschädigten Membranlipiden ist nicht bekannt, auch nicht, ob Äthan und Äthen wahlweise entstehen können oder ineinander umgewandelt werden. Ihre Entstehungsweise kann man sich aber auf die in der Literaturübersicht (siehe Abschnitt 1. 7. 2.) angegebene Weise vorstellen. Welcher Kohlenwasserstoff entsteht, ist demnach weniger von der schädigenden Noxe, als von der Natur des geschädigten Membranlipids abhängig.

2. Ergebnisse

Spontanexspiration von Kohlenwasserstoffen. Ein Vergleich der Blindversuche ohne und mit Versuchstieren zeigt, daß unbehandelte Tiere eine gewisse Spontanexspiration kurzkettiger Kohlenwasserstoffe aufweisen (vgl. Abb. 3 und 5). Dies ist auch von Dillard et al. (1976), Schmid (1979), Schmid und Jungbauer (1980), Schmid und Christoph (1980) sowie Ramstoeck et al. (1980) beschrieben worden. Man kann die unbeeinflußte Kohlenwasserstoffexspiration der Versuchstiere mit einer quasi konstanten, zwar geringen aber nachweisbaren, spontanen Lipidperoxidation in vivo erklären (Schmid, 1980).

Wenn Versuchstiere in einem geschlossenen System gehalten werden, strebt hier die Konzentration der spontan exhalierten Kohlenwasserstoffe mit der Zeit einem Grenzwert zu, wie dies bei den Blindversuchen mit unbehandelten Versuchstieren (siehe Tab. 3 und 4), bei den Kontrollversuchen (siehe Tab. 5, 6, 7 und 8) und bei den Testversuchen mit unwirksamen Schwermetallen (siehe Tab. 9, 10, 11 und 12) zu beobachten war. Entsprechende Befunde sind auch von Köster et al. (1977) sowie Schmid und Christoph (1980) erhoben worden. Es handelt sich dabei offenbar um die Einstellung eines dynamischen Gleichgewichtes zwischen spontan gebildeten bzw. exhalierten und wiederinhalierten bzw. metabolisierten Kohlenwasserstoffen, wie es bei einer sogenannten "simultanen 0/1-Kinetik" (gleichzeitig ablaufende Exhalationskinetik 0ter und Metabolisierungskinetik 1ter Ordnung) theoretisch zu erwarten ist (Schmid, 1980).

Die Metabolisierung der Kohlenwasserstoffe besteht bei

- Alkanen hauptsächlich in einer ω-1-Oxidation zu den entsprechenden Alkoholen (Kusunose et al., 1969; Frommer et al., 1970; Frommer et al., 1972; DiVincenzo et al., 1976):

$$-CH_2-CH_2-CH_3 \longrightarrow -CH_2-CH(OH)-CH_3$$

und bei

- Alkenen in einer Oxidation der Doppelbindung, wobei schließlich die entsprechenden Glykole gebildet werden (Neubauer, 1901; Maynert et al., 1970; Watabe und Yamada, 1975):

$$-CH=CH- \longrightarrow -CH(OH)-CH(OH)-$$

Sie wird von mikrosomalen Monooxygenasen besorgt (Das et al., 1968; Ichihara et al., 1969; Kusunose et al., 1969; Lu et al., 1970; Maynert et al., 1970; Frommer et al., 1974). Die metabolisch entstehenden Alkohole bzw. Glykole unterliegen weiteren Biotransformationen (Neubauer, 1901; McCarthy, 1964).

Aufgrund dieser Zusammenhänge muß angenommen werden, daß bei den durchgeführten Untersuchungen die Nettoexspiration (Exspiration minus Inhalation bzw. Metabolisierung) gemessen worden ist. Sie beträgt bei den Kontrollversuchen ohne Schwermetallbelastung (siehe Tab. 5, 6, 7 und 8) - je nach Meßzeitpunkt - für Äthan 2,6 bis 4,5 und für Äthen 3,2 bis 6,1 nmol pro kg Körpermasse und Akkumulationsdauer.

Metallabhängigkeit der Kohlenwasserstoffexspiration. Die skizzierte spontane Nettoexspiration von
- Äthan wird durch höhere Sn^{2+}- und Pb^{2+}-Dosen und von
- Äthen durch höhere Pb^{2+}-Dosen

signifikant gesteigert (siehe Tab. 18 und 19). Außerdem hat sich zeigen lassen, daß die Äthan- bzw. Äthenexspiration nach Verabreichung dieser Schwermetallionen dosisabhängig ist (siehe Tab. 20). Damit ist nach dem derzeitigen Stand des Wissens die Schlußfolgerung erlaubt, daß Pb^{2+}- und Sn^{2+}-Ionen eine Lipidperoxidation in vivo verursachen; für Mn^{2+}- und Ni^{2+}-Ionen konnte dagegen ein solcher Effekt nicht nachgewiesen werden. Diese Schlußfolgerung deckt sich mit den im Literaturteil erörterten vergleichbaren Untersuchungen mit Mn^{2+} in vitro (Lieberman und Mapson, 1964; Robinson, 1965) und mit organischen Bleiverbindungen in vivo (Sifri und Hoekstra, 1978; Ramstoeck et al., 1980). Sie steht im Widerspruch zu Untersuchungen von Gelman et al. (1979), welche keine Hinweise auf lipidperoxidierende Eigenschaften von Pb^{2+}-Ionen i n v i t r o fanden. Vergleichbare Untersuchungsergebnisse für Ni^{2+}- und Sn^{2+}-Ionen liegen nicht vor.

Bei einer metallstimulierten Kohlenwasserstoffexspiration sollte der zeitliche Konzentrationsverlauf im geschlossenen System - anders als bei der Spontanexspiration - einer sogenannten "simultanen 1/1-Kinetik" (gleichzeitig ablaufende Exhalations- und Metabolisierungskinetik 1ter Ordnung) entsprechen, da hier die Kohlenwasserstoffexhalation nicht nur von der Zeit (wie bei der Spon-

tanexspiration), sondern auch von der Resorption der Schwermetalle aus der Bauchhöhle abhängig ist. Infolgedessen ist in diesem Fall eine sogenannte Bateman-Funktion zu erwarten. Die Abbildungen 18, 23 und 25 zeigen jedoch eher einen exponentiellen Verlauf, welcher sich am besten mit einer Wirkungsverstärkung (verstärkten Lipidperoxidation) der resorbierten Sn^{2+}- und Pb^{2+}-Ionen durch radikalische Kettenreaktionen erklären läßt.

Radikalinduktion durch Schwermetalle. Wenn Sn^{2+}- und Pb^{2+}-Ionen - wie ausgeführt - eine Lipidperoxidation in vivo verursachen, Mn^{2+}- und Ni^{2+}-Ionen dagegen nicht, kann man sich nach den Ursachen dieser unterschiedlichen, toxikologisch bedeutsamen Eigenschaften der genannten Schwermetalle fragen.

Man wird bei der Beantwortung dieser Frage davon ausgehen können, daß die Lipidperoxidation durch Schwermetalle letzten Endes auf einer Elektronenabgabe (one-electron-transfer; Pryor, 1976) der Metalle (Metallionen) beruht und zum Beispiel so ablaufen kann (Smith und Dunkley, 1962; Lindquist, 1968):

a) $Me^{n+} + O_2 \longrightarrow MeO_2^{n+}$
b) $MeO_2^{n+} + H^+ \longrightarrow HOO^{\cdot} + Me^{(n+1)+}$
c) $HOO^{\cdot} + LH \longrightarrow L^{\cdot} + HOOH$
d) $L^{\cdot} + O_2 \longrightarrow LOO^{\cdot}$
e) $LOO^{\cdot} + LH \longrightarrow LOOH + L^{\cdot}$

Me: Schwermetall
LH: Lipid

Es ist deshalb naheliegend, eine Lipidperoxidation von solchen Schwermetallionen zu erwarten, deren Elektronenhülle durch Elektronenabgabe eine energetische Stabilisierung erfährt. Für welche der untersuchten Ionen dies zutrifft, läßt sich dem nachstehend dargestellten Aufbau ihrer äußeren Elektronenhüllen entnehmen.

Tab. 22: Äußere Elektronenhülle von Mn^{2+}-/Mn^{4+}-, Ni^{2+}-/Ni^{3+}-, Sn^{2+}-/Sn^{4+}- und Pb^{2+}-/Pb^{4+}-Ionen (Latscha und Klein, 1978)

Ionen	Elektronenhülle											
	3s	3p	3d	4s	4p	4d	4f	5s	5p	5d	5f	6s
Mn^{2+}	2	6	5									
Mn^{4+}	2	6	3									
Ni^{2+}	2	6	8									
Ni^{3+}	2	6	7									
Sn^{2+}	2	6	10	2	6	10	0	2				
Sn^{4+}	2	6	10	2	6	10						
Pb^{2+}	2	6	10	2	6	10	14	2	6	10	0	2
Pb^{4+}	2	6	10	2	6	10	14	2	6	10		

Bei einer Beurteilung der Stabilitätsverhältnisse dieser Elektronenhüllen ist zu berücksichtigen, daß stabile (energiearme) Zustände vorliegen, wenn periphere Elektronenorbitale voll besetzt (abgeschlossen) oder halb besetzt (Hund'sche Regel) sind. Dies ist der Fall, wenn periphere s-, p-, d- bzw. f-Orbitale

- mit 2, 6, 10 bzw. 14 Elektronen (ihren magnetischen Quantenzahlen entsprechend) voll gefüllt, oder
- mit 1, 3, 5 bzw. 7 Elektronen halb gefüllt sind.

Auf die untersuchten Schwermetallionen angewandt heißt dies, daß

a) Mn^{2+} mit einem halb gefüllten $3d^5$-Orbital stabiler ist als Mn^{4+}, also wenig Neigung zur Elektronenabgabe zeigt;

b) Ni^{2+} durch A u f n a h m e von 2 Elektronen ein voll gefülltes $3d^{10}$-Orbital erhalten würde, also nur schwer Elektronen abgeben wird;

c) Sn^{2+} durch Abgabe von 2 Elektronen ein stabiles, voll aufgefülltes $4d^{10}$-Orbital erhält; hinzu kommt, daß Sn^{4+} die gleiche Elektronenhülle besitzt wie das Edelmetall Palladium;

d) Pb^{2+} durch Abgabe von 2 Elektronen ein stabiles $5d^{10}$-Orbital erhält, wobei interessant ist, daß die Elektronenhülle des Pb^{4+} jener des Edelmetalls Platin ($5d^{9}6s^{1}$) ähnlich ist, zumal nach Hollemann und Wiberg (1976) keine restlose Klarheit über die Elektronenaufnahme und -abgabe in die peripheren Orbitale besteht.

Es besteht demnach eine auffällige Parallele zwischen den lipidperoxidierenden (radikalinduzierenden) Eigenschaften der untersuchten Schwermetallionen und den Stabilitätsverhältnissen ihrer Elektronenhüllen, welche an mögliche Zusammenhänge denken läßt.

V. ZUSAMMENFASSUNG

In der vorliegenden Arbeit wird über die experimentelle Untersuchung von Mangan(II)-azetat, Nickel(II)-azetat, Zinn(II)-sulfat und Blei(II)-azetat auf radikalbildende Eigenschaften in vivo berichtet.

Die Untersuchungen wurden mit gemischten Versuchstiergruppen aus männlichen und weiblichen Mäusen durchgeführt, denen die genannten Schwermetallsalze in isotonischer Lösung intraperitoneal zugeführt worden sind.

Zum Nachweis einer Radikalbildung in vivo ist die Exspirationsluft der Versuchstiere nach Riely et al. (1974) gaschromatographisch auf flüchtige kurzkettige Kohlenwasserstoffe (Äthan bis Pentan; Äthen bis Buten) untersucht worden, welche als Zerfallsprodukte von radikalgeschädigten zellulären und/oder subzellulären Membranen in vivo entstehen.

Die Untersuchungsergebnisse lassen sich folgendermaßen zusammenfassen:

a) Unbehandelte Versuchstiere, mit Natriumazetat bzw. -sulfat belastete Kontrolltiere und mit unwirksamen Schwermetallionen behandelte Testtiere exspirieren eine kleine - offenbar konstante - Menge Äthan und Äthen, welche im geschlossenen System mit der Zeit einer Grenzkonzentration zustrebt.

b) Die Verabreichung von Zinn(II)-sulfat und Blei(II)-azetat verursacht eine dosisabhängige Stimulation der Äthanexspiration.

c) Die Verabreichung von Blei(II)-azetat stimuliert außerdem die Äthenexspiration in dosisabhängiger Weise.

d) Mangan(II)-azetat und Nickel(II)-azetat stimulieren weder die Exspiration von Äthan und Äthen, noch von anderen flüchtigen Kohlenwasserstoffen; letzteres trifft auch für Zinn(II)-sulfat und Blei(II)-azetat zu.

Aus den Ergebnissen wird der Schluß gezogen, daß Zinn(II)- und Blei(II)-ionen aufgrund radikalbildender Eigenschaften eine Lipidperoxidation in vivo verursachen.

Die unterschiedliche Fähigkeit der untersuchten Schwermetallionen zur Radikalbildung bzw. Lipidperoxidation in vivo wird mit einer unterschiedlichen Elektronenkonfiguration erklärt.

SUMMARY

The present study reports on the experimental testing of manganese(II) acetate, nickel(II) acetate, tin(II) sulfate and lead(II) acetate on radical inducing properties in vivo.

The tests were carried out with groups of animals, composed of male and female mice, which were given the above mentioned heavy metal salts intraperitoneally in isotonic solution.

The formation of free radicals in vivo was investigated by analyzing breath samples of the animals, as described by Riely et al. (1974), gaschromatographically on volatile short-chained hydrocarbons (ethane to pentane; ethylene to butylene), which are scission products of cellular and/or subcellular membranes damaged by free radicals in vivo.

The results may be summarized as follows:

a) Untreated animals, animals given sodium acetate or sodium sulfate and animals given heavy metal ions without radical inducing properties expire a small - apparently constant - amount of ethane and ethylene, which tends in a closed system towards an equilibrium concentration.

b) The application of tin(II) sulfate and lead(II) acetate causes a dose-dependent stimulation of the expiration of ethane.

c) Moreover the application of lead(II) acetate causes a dose-dependent stimulation of the expiration of ethylene.

d) Manganese(II) acetate and nickel(II) acetate stimulate neither the expiration of ethane and ethylene, nor the expiration of other volatile hydrocarbons; the latter is true also for tin(II) sulfate and lead(II) acetate.

From the results it is concluded, that tin(II) sulfate and lead(II) acetate cause a lipid peroxidation by inducing free radicals in vivo.

The different ability of the tested heavy metal ions to induce free radicals and lipid peroxidation in vivo are explained by their differing electronic configuration.

VI. LITERATURVERZEICHNIS

Aaes-Jörgensen E
In: Lundberg WO (editor)
Autoxidation and antioxidants. Vol. II
New York: Wiley (Interscience) 1962

Aldridge WN, Cremer JE
The biochemistry of organo-tin compounds. Diethyltindichloride and triethyltinsulfate.
Biochem. J. 61, 400 - 418, 1955

Aldridge WN
The biochemistry of organo-tin compounds. Trialkyltins and oxidative phosphorylation.
Biochem. J. 69, 367 - 376, 1958

Baer RL, Ramsey DL, Biondi E
The most common contact allergens 1968 - 1970.
Arch. Dermatol. 108, 74 - 78, 1973

Baird MB, Massie HR, Piekielniak MJ
Formation of lipid peroxides in isolated rat liver microsomes by singlet molecular oxygen.
Chem.-biol. Interactions 16, 145 - 153, 1977

Barber AA
Lipid peroxidation in rat tissue homogenates: Interaction of iron and ascorbic acid as the normal catalytic mechanism.
Lipids 1, 146 - 151, 1965

Barber AA, Bernheim F
Lipid peroxidation: Its measurement, occurence and significance in animal tissues.
Adv. Gerontol. Res. 2, 355 - 403, 1967

Barnes JM, Stoner HB
The toxicology of tin compounds.
Pharmacol. Rev. 11, 211 - 231, 1959

Berk PD, Tschudy DP, Shepley LA, Waggoner JG, Berlin NJ
Hematologic and biochemical studies in a case of lead poisoning.
Am. J. Med. 48, 137 - 144, 1970

Brabham DE, Lee JL
Excited state interactions of α-tocopherol and molecular oxygen.
J. Phys. Chem. 80, 2292 - 2296, 1976

Browning E
Toxicity of industrial metals. 2nd edition
London: Butterworth and Co. 1969

Calloway DH, McMullen JJ
Fecal excretion of iron and tin by men fed stored canned foods.
Am. J. Clin. Nutr. 18, 1 - 6, 1966

Chisolm JJ Jr
Lead poisoning.
Scientific American 224 (2), 15 - 23, 1971

Christen HR
Chemie. 9. Auflage
Aarau: Verlag Sauerländer
Frankfurt am Main: Verlag Diesterweg und Salle 1974

Cohen G
Lipid peroxidation: Detection in vivo and in vitro through the formation of hydrocarbon gases.
London: Symposium on oxygen free radicals and tissue damage der CIBA Foundation vom 6. - 8. 6. 1978

Conroy PJ, Nodes JT, Slater TF, White GW
Carcinnstatic activity of 4-hydroxy-2-pent-en-1-al against transplantable murine tumour lines.
Eur. J. Cancer 11, 231 - 240, 1975

Dahle LK, Hill EG, Holman RT
The thiobarbituric acid reaction and the autoxidations of polyunsaturated fatty acid methyl esters.
Arch. Biochem. Biophys. 98, 253 - 261, 1962

Das ML, Orrenius S, Ernster L
On the fatty acid and hydrocarbon hydroxylation in rat liver microsomes.
Eur. J. Biochem. 4, 519 - 523, 1968

DeGroot AP, Feron VJ, Til HP
Short-term toxicity studies on some salts and oxides of tin in rats.
Fd. Cosmet. Toxicol. 11, 19 - 30, 1973

Demopoulos HB
Control of free radicals in biologic systems.
Fed. Proc. 32, 1903 - 1908, 1973 a

Demopoulos HB
The basis of free radical pathology.
Fed. Proc. 32, 1859 - 1861, 1973 b

Dillard Cora J, Tappel AL
Fluorescent products of lipid peroxidation of mitochondria and microsomes.
Lipids 6, 715 - 721, 1971

Dillard Cora J, Tappel AL
Fluorescent products from reaction of peroxidizing polyunsaturated fatty acids with phosphatidyl ethanolamine and phenylalanine.
Lipids 8, 183 - 189, 1973

Dillard Cora J, Dumelin EE, Tappel AL
Effect of dietary vitamin E on expiration of pentane and ethane by the rat.
Lipids 12, 109 - 114, 1976

DiVincenzo GD, Kaplan CJ, Dedinas J
Characterization of the metabolites of methyl n-butyl ketone, and methyl ethyl ketone in guinea pig serum and their clearance.
Toxicol. Appl. Pharmacol. 36, 511 - 522, 1976

Dumelin EE, Tappel AL
Hydrocarbon gases produced during in vitro peroxidation of polyunsaturated fatty acids and decomposition of preformed hydroperoxides.
Lipids 12, 894 - 899, 1977

Durbin PW
Metabolic characteristics within a chemical family.
Health physics 2, 225 - 238, 1960

Epstein J, Gershon D
Studies on ageing in nematodes. IV. The effect of antioxidants on cellular damage and life span.
Mech. Age. Dev. 1, 257 - 264, 1972

Fahrenholtz SR, Doleiden FH, Trozzolo AM, Lamola AA
On the quenching of singlet oxygen by α-tocopherol.
Photochem. Photobiol. 20, 505 - 509, 1974

Fisher AA, Shapiro A
Allergic eczematous contact dermatitis due to metallic nickel.
J. Am. Med. Assoc. 161, 717 - 721, 1956

Flohé L
Glutathione peroxidase: Fact and fiction.
London: Symposium on oxygen free radicals and tissue damage der CIBA Foundation vom 6. - 8. 6. 1978

Fong KL, McCay PB, Poyer JL
Evidence for superoxide-dependent reduction of Fe^{3+} and its role in enzyme-generated hydroxyl radical formation.
Chem.-biol. Interactions 15, 77 - 89, 1976

Foote ChS, Ching Y-T, Geller GG
Chemistry of singlet oxygen. XVIII. Rates of reaction and quenching of α-tocopherol and singlet oxygen.
Photochem. Photobiol. 20, 511 - 513, 1974

Foote ChS
Photosensitized oxidation and singlet oxygen: Consequences in biological systems.
In: Pryor WA (editor)
Free radicals in biology. Vol. II
New York: Academic Press 1976

Frank H, Hintze T, Remmer H
Volatile hydrocarbons in breath as an indicator for peroxidative degradation of lipids.
Überlingen: 2nd international symposium on headspace analysis im Oktober 1978

Fridovich I
Oxygen radicals, hydrogen peroxide and oxygen toxicity.
In: Pryor WA (editor)
Free radicals in biology. Vol. I
New York: Academic Press 1976

Fridovich I
Superoxide dismutases: Defense against endogenous superoxide.
London: Symposium on oxygen free radicals and tissue damage der
CIBA Foundation vom 6. - 8. 6. 1978

Friedrich A
Persönliche Mitteilung. 1980

Frommer U, Ullrich V, Staudinger H
Hydroxylation of aliphatic compounds by liver microsomes. I. The
distribution pattern of isomeric alcohols.
Hoppe-Seylers Z. Physiol. Chem. 351, 903 - 912, 1970

Frommer U, Ullrich V, Staudinger HJ, Orrenius S
The monooxygenation of n-heptane by rat liver microsomes.
Biochim. Biophys. Acta 280, 487 - 494, 1972

Frommer U, Ullrich V, Orrenius S
Influence of inducers and inhibitors on the hydroxylation pattern
of n-hexane in rat liver microsomes.
FEBS Lett. 41, 14 - 16, 1974

Fuwa K, Wacker WEC, Druyon R, Bartholomay AF, Vallee BL
Nucleic acids and metals. II. Transition metals as determinants
of the conformation of ribonucleic acids.
Proc. Nat. Acad. Sci. U. S. A. 46, 1298 - 1307, 1960

Gavino VC, Csallany AS
Chemical oxidation of d-α-tocopherol by superoxide and the effect of d-α-tocopherol on superoxide dismutase activity in mice tissues.
Fed. Proc. 36, 852 (abstract 3061), 1977

Gelman BB, Michaelson JA, Bornschein RL
Brain lipofuscin concentration and oxidant defense enzymes in lead-poisoned neonatal rats.
J. Toxicol. Environ. H. 5, 683 - 698, 1979

Gmelin L
Gmelins Handbuch der Anorganischen Chemie. 8. Auflage
Mangan. Teil B
Weinheim: Verlag Chemie 1973

Goldberg A, Meredith PA, Miller S, Moore MR, Thompson GG
Heme biosynthesis and hepatic drug metabolism in lead-poisoned rats.
Brit. J. Pharmacol. 61 (1), 134 - 135, 1977

Goyer RA, Mushak P
Lead toxicity laboratory aspects.
In: Goyer RA, Mehlman MA (editors)
Advances in modern toxicology. Vol. II. Toxicology of trace elements.
Washington: Hemisphere Publish. Corp. 1977

Guinee VF
Lead poisoning.
Am. J. Med. 52, 283 - 288, 1972

Haber F, Weiss J
The catalytic decomposition of hydrogen peroxide by iron salts.
Proc. Roy. Soc. London 147, 332 - 351, 1934

Hafeman DG, Hoekstra WG
Protection against carbon tetrachloride induced lipid peroxidation in the rat by dietary vitamin E, selenium and methionine as measured by ethane evolution.
J. Nutr. 107, 656 - 665, 1977

Hapke H-J
Toxikologie für Veterinärmediziner.
Stuttgart: Ferdinand Enke Verlag 1975

Haugaard N
Cellular mechanism of oxygen toxicity.
Physiol. Rev. 48, 311 - 374, 1968

Hochstein P, Nordenbrand K, Ernster L
Evidence for the involvement of iron in the ADP-activated peroxidation of lipids in microsomes and mitochondria.
Biochem. Biophys. Res. Comm. 14 (4), 323 - 328, 1964

Hohnadel DC, Sunderman FW Jr, Nechay FW, McNeely MD
Atomic absorption spectrometry of nickel, copper, zinc and lead in sweat collected from healthy subjects during sauna bathing.
Clin. Chem. 19, 1288 - 1292, 1973

Hollemann AF, Wiberg E
Lehrbuch der Anorganischen Chemie. 81. - 90. Auflage
Berlin, New York: Walter de Gruyter 1976

Hueper WC
Pulmonary lesions in guinea pigs and rats exposed to prolonged inhalation of metallic nickel.
Arch. Pathol. 65, 600 - 604, 1958

Ichihara K, Kusunose E, Kusunose M
Microsomal hydroxylation of decane.
Biochim. Biophys. Acta 176, 713 - 719, 1969

Joyce CRB, Moore H, Weatherhall M
The effect of lead, mercury and gold on the potassium turnover of rabbit blood cells.
Brit. J. Pharmacol. 9, 463 - 470, 1954

Kasprzak KS, Sunderman FW Jr
The metabolism of nickel-carbonyl-^{14}C.
Toxicol. Appl. Pharmacol. 15, 295 - 303, 1969

Khan AU
Singlet molecular oxygen from superoxide anion and sensitized fluorescence of organic molecules.
Science 168, 476 - 477, 1970

Kieczka H, Schulze R, Kappus H
Influence of different O_2- and Fe^{2+}-concentrations on the CCl_4-induced lipid peroxidation in vitro and in vivo.
Arch. Pharmacol. 307 (S), Nr. 81, 1979

Köster U, Albrecht D, Kappus H
Evidence for carbon tetrachloride- and ethanol-induced lipid peroxidation in vivo demonstrated by ethane production in mice and rats.
Toxicol. Appl. Pharmacol. 41, 639 - 648, 1977

Kolpakov FJ
Permeability of skin to nickel compounds.
Arkh. Patol. 25 (6), 38 - 45, 1963

Kusunose M, Ichihara K, Kusunose E
Oxidation of n-hexadecane by mouse liver microsomal fraction.
Biochim. Biophys. Acta 176, 679 - 681, 1969

Latscha HP, Klein HA
Anorganische Chemie.
Berlin, Heidelberg, New York: Springer Verlag 1978

Leibman KC, Ortiz E
Epoxide intermediates in microsomal oxidation of olefins to glycols.
J. Pharm. Exp. Ther. 173, 242 - 246, 1970

Lenz GR, Martell AE
Metal complexes of carnosine.
Biochemistry 3, 750 - 753, 1964

Levander OA, Morris VC, Higgs DJ, Ferretti RJ
Lead poisoning in vitamin E-deficient rats.
J. Nutr. 105, 1481 - 1485, 1975

Levander OA, Morris VC, Ferretti RJ
Interactions of lead poisoning and vitamin E-deficiency.
Dev. Toxicol. Environ. Sci. 1, 23 - 26, 1977 a

Levander OA, Morris VC, Ferretti RJ
Filterability of erythrocytes from vitamin E-deficient lead-poisoned rats.
J. Nutr. 107, 363 - 372, 1977 b

Levander OA, Morris VC, Ferretti RJ
Comparative effects of selenium and vitamin E in lead-poisoned rats.
J. Nutr. 107, 378 - 382, 1977 c

Levander OA, Ferretti RJ, Morris VC
Osmotic and peroxidative fragilities of erythrocytes from vitamin E-deficient lead-poisoned rats.
J. Nutr. 107, 373 - 377, 1977 d

Lieberman M, Mapson LW
Genesis and biogenesis of ethylene.
Nature 204, 343 - 345, 1964

Lieberman M, Hochstein P
Ethylene formation in rat liver microsomes.
Science 152, 213 - 214, 1966

Lindemann B, Passow H
Kaliumverlust und ATP-Zerfall in bleivergifteten Menschenerythrozyten.
Pflüg. Arch. Ges. Physiol. 271, 369 - 373, 1960

Lindquist RR
Studies on the pathogenesis of hepatolenticular degeneration.
III. The effect of copper on rat liver lysosomes.
Am. J. Pathol. 53, 903 - 928, 1968

Lissner J, Hug D
Radiologie.
Stuttgart: Ferdinand Enke Verlag 1975

Lu AY, Junk KW, Coon MJ
Resolution of the cytochrome P-450-containing omega-hydroxylation system of liver microsomes into three components.
J. Biol. Chem. 244, 3714 - 3721, 1969

Lu AY, Strobel HW, Coon MJ
Properties of a solubilized form of the cytochrome P-450-containing mixed-function oxidase of liver microsomes.
Molec. Pharmac. 6, 213 - 220, 1970

Malshet VG, Tappel AL, Burns VM
Fluorescent products of lipid peroxidation. II. Methods for analysis and characterization.
Lipids 9, 328 - 332, 1974

Maynert EW, Foreman RL, Watabe T
Epoxides as obligatory intermediates in the metabolism of olefins to glycols.
J. Biol. Chem. 245, 5234 - 5238, 1970

McCarthy RD
Mammalian metabolism of straight-chain saturated hydrocarbons.
Biochim. Biophys. Acta 84, 74 - 79, 1964

Mead JF
Free radical mechanisms of lipid damage and consequences for cellular membranes.
In: Pryor WA (editor)
Free radicals in biology. Vol. I
New York: Academic Press 1976

Menke K-H, Huss W
Tierernährung und Futtermittelkunde.
Stuttgart: Verlag Eugen Ulmer 1975

Mitchell MP, Hübscher G
Oxidation of n-hexadecane by subcellular preparations of guinea pig small intestine.
Eur. J. Biochem. 7, 90 - 95, 1968

Moll WLH
Taschenbuch für Umweltschutz. Band 1: Chemische und technologische Informationen.
Darmstadt: Dr. Dietrich Steinkopff Verlag 1978

Monier-Williams GN
Trace elements in food.
London: Chapman and Hall Ltd. 1949

Moroff G, Poster J, Oster G
Enhancement of the copper-induced hemolysis by progesterone.
J. Steroid Biochem. 5, 601 - 606, 1974

Nechay MW, Sunderman FW Jr
Measurements of nickel in hair by atomic absorption spectrometry.
Ann. Clin. Lab. Sci. 3, 30 - 35, 1973

Neubauer O
Über Glykuronsäurepaarung bei Stoffen der Fettreihe.
Arch. Exp. Path. Pharmakol. 46, 133 - 154, 1901

Nielsen FH
Nickel toxicity.
In: Goyer RA, Mehlman MA (editors)
Advances in modern toxicology. Vol. II. Toxicology of trace elements.
Washington: Hemisphere Publish. Corp. 1977

Nomoto S, McNeely MD, Sunderman FW Jr
Isolation of a nickel α_2-macroglobulin from rabbit serum.
Biochemistry 10, 1647 - 1651, 1971

Nomoto S, Decsy MJ, Murphy JR, Sunderman FW Jr
Isolation of a ^{63}Ni-labeled nickeloplasmin from rabbit serum.
Biochem. Med. 8, 171 - 181, 1973

Oerskov SL
Untersuchungen über den Einfluß von Kohlensäure und Blei auf die Permeabilität der Blutkörperchen für Kalium und Rubidium.
Biochem. Z. 279, 250 - 261, 1935

Oh SH, Ganther HE, Hoekstra WG
Selenium as a component of glutathione peroxidase isolated from ovine erythrocytes.
Biochemistry 13, 1825 - 1829, 1974

Passow H, Rothstein A, Clarkson TW
The general pharmacology of the heavy metals.
Pharmacol. Rev. 13, 185 - 224, 1961

Peters JW, Foote CS
Chemistry of superoxide ion. II. Reaction with hydroperoxides.
J. Am. Chem. Soc. 98, 873 - 875, 1976

Plaa GL, Witschi H
Chemicals, drugs and lipid peroxidation.
Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol. 16, 125 - 141, 1976

Pryor WA
Einführung in die Radikalchemie.
Weinheim: Verlag Chemie 1974

Pryor WA
The role of free radical reactions in biological systems.
In: Pryor WA (editor)
Free radicals in biology. Vol. I
New York: Academic Press 1976

Rabinowitz MB, Wetherrill GW, Kopple JD
Lead metabolism in the normal human: Stable isotope studies.
Science 182, 725 - 727, 1973

Ramstoeck ER, Hoekstra WG, Ganther HE
Trialkyllead metabolism and lipid peroxidation in vivo in vitamin E- and selenium-deficient rats as measured by ethane production.
Toxicol. Appl. Pharmacol. 54, 251 - 257, 1980

Recknagel RO, Glende EA Jr, Hruszkewycz AM
Chemical mechanisms in carbon tetrachloride toxicity.
In: Pryor WA (editor)
Free radicals in biology. Vol. III
New York: Academic Press 1977

Riely Caroline A, Cohen G, Lieberman M
Ethane evolution: A new index of lipid peroxidation.
Science 183, 208 - 210, 1974

Robinson JD
Structural changes in microsomal suspensions. III. Formation of lipid peroxides.
Arch. Biochem. Biophys. 112, 170 - 179, 1965

Roehm JN, Hadley JC, Menzel DB
Oxidation of unsaturated fatty acids by ozone and nitrogen dioxide.
Arch. Environ. Health 23, 142 - 148, 1971

Sachs L
Angewandte Statistik. 5. Auflage
Berlin, Heidelberg, New York: Springer-Verlag 1978

Sagai M, Tappel AL
Lipid peroxidation induced by some halomethanes as measured by in vivo pentane production in the rat.
Toxicol. Appl. Pharmacol. 49, 283 - 291, 1979

Saprin AN, Piette LH
Spin trapping and its application in the study of lipid peroxidation and free radical production with liver microsomes.
Arch. Biochem. Biophys. 180, 480 - 492, 1977

Schmid A
Causes of drug related iron-intoxication. Ethane expiration of mice following intraperitoneal Fe^{2+}-administration.
Arch. Pharmacol. 307 (S), Nr. 86, 1979

Schmid A
Persönliche Mitteilung. 1980

Schmid A, Jungbauer Claudia
Expiration of foreign substances by mice following parenteral loading with chlorinated methane derivatives.
Arch. Pharmacol. 311 (S), Nr. 76, 1980

Schmid A, Christoph M
Untersuchungen zur Genese der parenteralen Eisenvergiftung.
Der praktische Tierarzt 7, 589 - 596, 1980

Schroeder HA, Balassa JJ, Tipton JH
Abnormal trace elements in man: nickel.
J. Chron. Dis. 15, 51 - 65, 1962

Schroeder HA, Balassa JJ, Tipton JH
Abnormal trace metals in man: tin.
J. Chron. Dis. 17, 483 - 502, 1964

Schroeder HA
A sensible look at air pollution by metals.
Arch. Environ. Health 21, 798 - 806, 1970 a

Schroeder HA
Nickel. Air quality monograph No. 70 - 14.
Washington: American Petroleum Institute 1970 b

Schultz HW, Day EA, Sinnhuber RO (editors)
Symposium on foods: Lipids and their oxidation.
Westport Conn.: Avi Publ. 1962

Schwarz K
Tin as an essential growth factor for rats.
In: Mertz W, Cornatzer WE (editors)
Newer trace elements in nutrition.
New York: Marcel Decker Inc. 1971

Scott KM, Hwang KM, Jurkowitz M, Brierley GP
Ion transport by heart mitochondria. XXIII. The effects of lead on mitochondrial reactions.
Arch. Biochem. Biophys. 147, 557 - 567, 1971

Sharma OP
Role of nonheme iron in nonenzymic lipid peroxide formation in rat brain.
Ind. J. Biochem. Biophys. 14, 302 - 304, 1977

Sifri EM, Hoekstra WG
Effect of lead on lipid peroxidation in rats deficient or adequate in selenium and vitamin E.
Fed. Proc. 37, 757 (abstract 2854), 1978

Slater TF
Mechanisms of protection against the damage produced in biological systems by oxygen-derived radicals.
London: Symposium on oxygen free radicals and tissue damage der CIBA Foundation vom 6. - 8. 6. 1978

Smith GJ, Dunkley WL
Initiation of lipid peroxidation by a reduced metal ion.
Arch. Biochem. Biophys. 98, 46 - 48, 1962

Stoddart JC
Nickel sensitivity as a cause of infusion reactions.
Lancet 2, 741 - 742, 1960

Sunderman FW Jr, Decsy MJ, McNeely MD
Nickel metabolism in health and disease.
Ann. N. Y. Acad. Sci. 199, 300 - 312, 1972

Sunderman FW Jr, Coulston F, Eichhorn GL, Fellows JA, Mastromatteo E, Reno HT, Samitz MH, Curtis BA, Vallee BL, West PW, McEwan JC, Shibko SJ, Boaz TD Jr
Nickel.
Washington: National Academy of Sciences 1975

Sunderman FW Jr
Metal carcinogenesis.
In: Goyer RA, Mehlman MA (editors)
Advances in modern toxicology. Vol. II. Toxicology of trace metals.
Washington: Hemisphere Publish. Corp. 1977

Sykes P
Reaktionsmechanismen in der Organischen Chemie. 7. Auflage
Weinheim: Verlag Chemie 1976

Tappel AL
Vitamin E and free radical peroxidation of lipids.
Ann. N. Y. Acad. Sci. 203, 12 - 28, 1972

Tappel AL
Lipid peroxidation damage to cell components.
Fed. Proc. 32, 1870 - 1874, 1973

Tappel AL
Protection against free radical lipid peroxidation reactions.
Adv. Exp. Med.-biol. 97, 111 - 131, 1978

Thomas HV, Mueller PK, Lyman RL
Lipoperoxidation of lung lipids in rats exposed to nitrogen dioxide.
Science 159, 532 - 534, 1968

Trombly R, Tappel AL, Gonigli JG, Grogan WM Jr, Rhamy RK
Fluorescent products and polyunsaturated fatty acids of human testes.
Lipids 10, 591 - 596, 1975

Turro NJ
Molecular photochemistry.
New York: Benjamin 1965

Underwood EJ
Trace elements in human and animal nutrition. 3rd edition
New York, London: Academic Press 1971

Urano S, Matsuo M
A radical scavenging reaction of α-tocopherol with methyl radical.
Lipids 11, 380 - 383, 1976

Van Soestbergen M, Sunderman FW Jr
^{63}Ni complexes in rabbit serum and urine after injection of $^{63}NiCl_2$.
Clin. Chem. 18, 1478 - 1484, 1972

Venugopal B, Luckey TP
Toxicology of non-radioactive heavy metals and their salts.
In: Luckey TD, Venugopal B, Hutcheson D (editors)
Heavy metal toxicity, safety and hormology.
Stuttgart: Georg Thieme
New York: Academic Press 1975

Vincent PC, Blackburn CRB
The effects of heavy metal ions on the human erythrocyte. I. Comparisons of the action of several heavy metals.
Aust. J. Exp. Biol. Med. Sci. 36, 471 - 478, 1958

Watabe T, Yamada N
The biotransformation of 1-hexadecene to carcinogenic 1,2-epoxyhexadecane by hepatic microsomes.
Biochem. Pharmac. 24, 1051 - 1053, 1975

Wells GC
Effects of nickel on the skin.
Brit. J. Derm. 68, 237 - 242, 1956

Willson RL
Hydroxyl radicals and biological damage in vitro: What relevance in vivo?
London: Symposium on oxygen free radicals and tissue damage der CIBA Foundation vom 6. - 8. 6. 1978

Wood JM, Cheh A, Dizikes LJ, Ridley WP, Rakow S, Lakowicz JR
Mechanisms for the biomethylation of metals and metalloids.
Fed. Proc. 37, 16 - 21, 1978

Wurster Claudia
Struktur-Wirkungsbeziehungen von chlorierten Methanderivaten.
München: Med. vet. Diss. 1980

Yamamoto G, Tanabe M, Hashimoto G, Yamamoto M
Studies on ferrous ion-induced lipid peroxidation of rat liver mitochondria. II. Relationship to incubation temperature.
Acta Med. Okayama 30, 291 - 301, 1976

Mein herzlicher Dank gilt Herrn Prof. Dr. A. Schmid für die Überlassung des Themas, sowie für seine wissenschaftliche Anleitung und seine stets freundlich gewährte Unterstützung bei der Durchführung der vorliegenden Arbeit.

LEBENSLAUF

Geburtstag:	15. 1. 53
Geburtsort:	Wangen im Allgäu
Eltern:	Margot Beuter, geb. Mattern Max Beuter, Verwaltungsdirektor
Schulausbildung:	nach Besuch der Volksschule, 1964 Übertritt in das Gymnasium Wangen im Allgäu Abitur 1972
Wehrdienst:	Januar 1973 bis März 1974 in Laupheim
Studium:	ab Wintersemester 1974/75 Studium der Veterinärmedizin an der Tierärztlichen Fakultät der Ludwig-Maximilians Universität München
Staatsexamen:	1979 in München
Approbation:	1980 in München
Familienstand:	seit 1978 verheiratet mit Edith Beuter, geb. Haslinger

UNTERSUCHUNG VON MANGAN(II)-, NICKEL(II)-, ZINN(II)- UND BLEI(II)-IONEN AUF RADIKALBILDENDE EIGENSCHAFTEN IN VIVO

Werner Beuter